

ALVO ORLANDO VIZZOTTO JUNIOR

**INFLUÊNCIA DA CISPLATINA
ADMINISTRADA NO PRÉ E PÓS-
OPERATÓRIO SOBRE A CICATRIZAÇÃO
DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM
RATOS TESTADA PELA FORÇA DE
RESISTÊNCIA A TRAÇÃO**

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Clínica Cirúrgica da Universidade
Federal do Paraná como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Mestre**

**Orientador:
Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos**

**Coordenador:
Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos**

**CURITIBA
2001**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

Ata do julgamento da 199ª dissertação de mestrado e do 248º do Curso para conclusão do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Nível Mestrado da Universidade Federal do Paraná, referente ao aluno: Alvo Orlando Vizzotto Junior com o título: "INFLUÊNCIA DA CISPLATINA ADMINISTRADA NO PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS TESTADA PELA FORÇA DE RESISTÊNCIA A TRAÇÃO", tendo como orientador o Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos, realizada em cinco de outubro de dois mil e um.

Às oito horas do dia cinco de outubro de dois mil e um, no Auditório do 7º andar central do Hospital de Clínicas, teve início a prova em epígrafe, constituída a Comissão Examinadora pelos Professores: Roberto da Silveira Moraes, Paulo Afonso Nunes Nassif e Sérgio Brenner, sendo este último Presidente da Comissão. Aberta a sessão foi apresentada pelo Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos, Coordenador do Programa, a documentação probatória do cumprimento pelo candidato das exigências legais que lhe facultam submeter-se à avaliação da dissertação, como última etapa à sua titulação no Programa. A seguir o Presidente da Comissão convidou o candidato a apresentar oralmente resumo de sua dissertação no prazo máximo de trinta minutos para demonstração de sua capacidade didática e para melhor conhecimento do tema por parte da audiência composta de professores, médicos, alunos, familiares e demais interessados. Seguiu-se a arguição e imediata resposta pelo candidato, sucessivamente pelos componentes da Comissão Examinadora, obedecido o tempo máximo de vinte minutos para a arguição e igual tempo para cada resposta. Terminada a etapa de arguição, reuniu-se a Comissão Examinadora em sala reservada para atribuição das notas, dos conceitos e lavratura do Parecer Conjunto necessário. Os conceitos e notas atribuídos foram: Prof.Dr. Roberto da Silveira Moraes: conceito " 10 " e equivalência " A " ; Prof.Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif: conceito " 10 " e equivalência " A " ; Prof.Dr. Sérgio Brenner: conceito " 10 " e equivalência " A ". Voltando a sala de sessão, o senhor Presidente da Comissão leu os conceitos do Parecer Conjunto, dando como final o conceito " 10 " e equivalência a " A ", e a recomendação de que a dissertação com o título já referido, possa ser publicada na forma final nos meios de divulgação científica adequados, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições. E para que tudo conste, foi lavrada a presente Ata, que vai assinada pelos componentes da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. Roberto da Silveira Moraes

Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif

Prof. Dr. Sérgio Brenner



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

***PARECER CONJUNTO DA COMISSÃO EXAMINADORA
DA AVALIAÇÃO DE
TESE/DISSERTAÇÃO DE MESTRADO***

Aluno: Alvo Orlando Vizzotto Junior

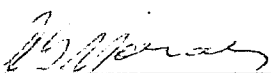
*Título da Dissertação: “INFLUÊNCIA DA CISPLATINA
ADMINISTRADA NO PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO
SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES
COLÔNICAS EM RATOS TESTADA PELA
FORÇA DE RESISTÊNCIA A TRAÇÃO”*

CONCEITOS EMITIDOS:

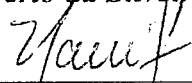
<i>Prof. Dr. Roberto da Silveira Moraes</i>	<i>- Conceito emitido 10 Equivalência A</i>
<i>Prof. Dr. Paulo Affonso Nunes Nassif</i>	<i>- Conceito emitido 10 Equivalência A</i>
<i>Prof. Dr. Sérgio Brenner</i>	<i>- Conceito emitido 10 Equivalência A</i>

Conceito Final de Avaliação:


Curitiba, 05 de Outubro de 2001



Prof. Dr. Roberto da Silveira Moraes



Prof. Dr. Paulo Affonso Nunes Nassif



Prof. Dr. Sérgio Brenner

ALVO ORLANDO VIZZOTTO JUNIOR

INFLUÊNCIA DA CISPLATINA
ADMINISTRADA NO PRÉ E PÓS-
OPERATÓRIO SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE
ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS
TESTADA PELA FORÇA DE RESISTÊNCIA A
TRAÇÃO

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Clínica Cirúrgica da Universidade
Federal do Paraná como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Mestre

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

Coordenador: Prof Dr. Antonio Carlos L. Campos

CURITIBA

2001

Aos meus pais (*in memoriam*), pelo incansável encorajamento ao meu aprimoramento durante suas vidas.

Aos meus irmãos e suas famílias por serem o esteio da minha vida.

À Paula, pelo carinho, compreensão e apoio constantes e incondicionais.

Aos pacientes oncológicos cujo sofrimento é um estímulo constante ao meu aperfeiçoamento profissional e à minha busca do conhecimento para melhor compreender e lutar contra este mal.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos, orientador deste trabalho, pela fundamental participação e generosa dedicação o que tornou possível a realização deste projeto.

Ao Dr. Calixto Antonio Hakin Neto, a quem considero como um pai e mentor, cujo caráter, profissionalismo, conhecimento técnico e sabedoria pautam a minha vida.

Ao Dr. Léo Uchida, sócio e companheiro, pelo incondicional apoio e cuja abnegação tornou exequível este trabalho.

Ao Hospital e Maternidade Santa Rita, na pessoa do Dr. Hiran Mora, pelo valioso suporte financeiro.

À Dra. Lúcia Noronha, patologista do Hospital de Clínicas, pela participação na avaliação histológica da presente dissertação.

Ao Prof. Eraldo Schunk Silva, pelo apoio na avaliação estatística dos dados do presente trabalho.

Ao LACTEC na pessoa do seu diretor, engenheiro Henrique José Ternes Neto, ao engenheiro Sérgio Luiz Henke, responsável pelo Departamento de Materiais e ao técnico Sérgio W. Santos pela valiosa colaboração.

Aos doutorandos João Vieira, Ana Vieira e Maurício Sato pelo empenho e auxílio durante a execução da etapa experimental deste projeto.

Ao Laboratório de Pesquisa em Cirurgia Experimental da UFPR e ao técnico Élson Dias de França pela prestimosa colaboração.

Ao meu colega de residência Emerson Wander Silva Soares pelo apoio e encorajamento nas horas de fraqueza.

À enfermeira Juliane Aparecida Alves e à farmacêutica Mirian Hitomi Andó pelo importante auxílio no preparo do material utilizado na fase experimental.

Ao Biotério do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, na pessoa do Sr. Cândido pela colaboração no fornecimento dos animais.

Aos Professores Roseli Boergen de Lacerda, Avelino Lacerda, Maria Tereza Schullz e Romeu Schullz porque este é o fruto da semente da iniciação científica que eles plantaram.

À professora Neusa Bento Galli, grande amiga e participante da minha formação, pela correção desta dissertação.

“Eu cuidei da ferida. Deus a curou.”
Ambroise Paré, Séc XVI.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE GRÁFICOS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xvii
RESUMO.....	xviii
<i>ABSTRACT</i>.....	xix
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVO.....	04
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	06
3.1 TRATAMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO.....	07
3.2 MECANISMO DE AÇÃO DA CISPLATINA.....	08
3.3 CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS CIRÚRGICAS.....	09
3.3.1 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização em geral.....	11
3.3.2 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização de anastomoses intestinais	12
3.4 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DAS	
ANASTOMOSES INTESTINAIS.....	19
3.4.1 Parâmetros clínicos.....	19
3.4.1.1 Peso.....	20
3.4.1.2 Infecção de ferida cirúrgica.....	22
3.4.1.3 Evolução pós-operatória.....	22
3.4.1.4 Aderências intra-abdominais.....	22
3.4.1.5 Complicações anastomóticas (deiscência e estenose).....	23

3.4.2 Parâmetros mecânicos.....	24
3.4.2.1 Pressão de ruptura.....	25
3.4.2.2 Tensão de explosão.....	26
3.4.2.3 Força de ruptura.....	26
3.4.3 Parâmetros histológicos.....	31
4 MATERIAL E MÉTODO.....	33
4.1 MATERIAL.....	34
4.1.1 Animais.....	34
4.1.2 Droga quimioterápica.....	35
4.2 MÉTODO.....	35
4.2.1 Grupos.....	35
4.2.2 Procedimento cirúrgico.....	35
4.2.3 Morte dos animais.....	37
4.2.4 Dados avaliados.....	38
4.2.4.1 Peso.....	38
4.2.4.2 Infecção em ferida cirúrgica.....	38
4.2.4.3 Evolução pós-operatória.....	39
4.2.4.4 Aderências intra-abdominais.....	39
4.2.4.5 Presença de complicações na anastomose (deiscência ou estenose).....	39
4.2.4.6 Força tênsil de ruptura da anastomose colônica.....	39
4.2.4.7 Avaliação histológica.....	42
4.2.5 Avaliação estatística.....	43
5 RESULTADOS.....	45
5.1 PESO.....	46
5.1.1 Diferença de peso.....	48

5.2	INFECÇÃO DE FERIDA CIRÚRGICA.....	48
5.3	EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA.....	49
5.4	ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS.....	50
5.5	COMPLICAÇÕES ANASTOMÓTICAS (DEISCÊNCIA E ESTENOSE).....	50
5.6	FORÇA TÊNSIL DE RUPTURA.....	52
5.7	AValiação HISTOLÓGICA.....	55
6	DISCUSSÃO.....	61
6.1	PARÂMETROS CLÍNICOS.....	65
6.1.1	Peso.....	65
6.1.2	Infecção de ferida cirúrgica.....	66
6.1.3	Evolução pós-operatória.....	67
6.1.4	Aderências intra-abdominais.....	67
6.1.5	Presença de complicações na anastomose (deiscência ou estenose).....	68
6.2	PARÂMETROS MECÂNICOS.....	68
6.2.1	Força tênsil de ruptura da anastomose colônica.....	69
6.2.1.1	Força máxima de tração (FMT).....	71
6.2.1.2	Força de ruptura completa (FRC).....	72
6.3	PARÂMETROS HISTOLÓGICOS.....	72
6.4	EFEITO DA CISPLATINA NA CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS.....	74
7	CONCLUSÃO.....	75
	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	77
	OBRAS CONSULTADAS.....	85
	ANEXOS.....	87

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO E ATRIBUIÇÃO DE ÍNDICES AOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HE (HEMATOXILINA- EOSINA).....	43
TABELA 2 - CARACTERIZAÇÃO DO TIPOS DE PROCESSO INFLAMATÓRIO DE ACORDO COM O ÍNDICE SOMATÓRIO FINAL DE CADA GRUPO.....	43
TABELA 3 - MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS A (QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO), D (QUE RECEBERAM DROGA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO) E C (GRUPO CONTROLE).....	47
TABELA 4 - MÉDIA E DESVIO PADRÃO DAS DIFERENÇAS ENTRE PESO INICIAL E NO DIA DA CIRURGIA (DPIC) E ENTRE O PESO NO DIA DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E NO DIA DA MORTE (DPCM).....	48
TABELA 5 - INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO DE FERIDA CIRÚRGICA NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).....	49
TABELA 6 - INCIDÊNCIA ÓBITOS NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).....	49

TABELA 7 - MÉDIA DOS ÍNDICES DE ADERÊNCIA NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).	50
TABELA 8 - INCIDÊNCIA DE COMPLICAÇÕES ANASTOMÓTICAS (DEISCÊNCIA E ESTENOSE) NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).....	51
TABELA 9 - MÉDIA DAS RAZÕES DOS DIÂMETROS DA ALÇA INTESTINAL PROXIMAL (AP) EM RELAÇÃO À DISTAL (AD) NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).....	51
TABELA 10 - MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NOS GRUPOS CONTROLE E QUE RECEBERAM CISPLATINA (ANTES E DEPOIS DO ATO CIRÚRGICO).....	52
TABELA 11 - MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NOS GRUPOS CONTROLE (C) E QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E DEPOIS DO ATO CIRÚRGICO (D).....	53

TABELA 12 - MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO ATO CIRÚRGICO (D5 E D8).....	54
TABELA 13 - MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NO GRUPO CONTROLE (C), GRUPOS QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D).....	56
TABELA 14 - MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A5 E A8) E GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).....	59
TABELA 15 - CLASSIFICAÇÃO DOS GRUPOS DE ACORDO COM A MÉDIA DA SOMATÓRIA FINAL DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS NO GRUPO CONTROLE (C), GRUPOS QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D).....	59

TABELA 16 - CLASSIFICAÇÃO DOS GRUPOS DE ACORDO COM A MÉDIA DA SOMATÓRIA FINAL DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO ATOCIRÚRGICO (A5 E A8) E GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).....	60
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 - EVOLUÇÃO DAS MÉDIAS E DESVIO PADRÃO
DOS PESOS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS A (QUE
RECEBEU CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO
CIRÚRGICO), D (QUE RECEBEU DROGA DEPOIS DO
PROCEDIMENTO CIRÚRGICO) E C (GRUPO CONTROLE).. 47
- GRÁFICO 2: - MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DA FORÇA MÁXIMA
DE TRAÇÃO (FMT) NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E
C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA
ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS
GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS
DO ATO CIRÚRGICO (D5 E D8)..... 54
- GRÁFICO 3 - MÉDIA E DESVIO PADRÃO DO INFILTRADO
NEUTROFÍLICO NO GRUPO CONTROLE (C),
GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO
ATO CIRÚRGICO (A) E GRUPO QUE RECEBEU
CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO
CIRÚRGICO (D)..... 57
- GRÁFICO 4 - MÉDIA E DESVIO PADRÃO DO ÍNDICE DE EDEMA
NO GRUPO CONTROLE (C), GRUPO QUE RECEBEU
CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E
GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO
PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D)..... 57

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ANIMAIS DISPOSTOS EM SUAS GAIOLAS NO LABORATÓRIO DE CIRURGIA EXPERIMENTAL DA PÓS-GRADUAÇÃO DA UFPR.....	34
FIGURA 2 - SEGMENTO DE CÓLON APÓS A CONFECÇÃO DA ANASTOMOSE TÉRMINO-TERMINAL.....	36
FIGURA 3 - SEGMENTO DE CÓLON RESSECADO DO ANIMAL MORTO NO OITAVO DIA PÓS-OPERATÓRIO.....	37
FIGURA 4 - MÁQUINA UNIVERSAL DE ENSAIO MECÂNICO COMPUTADORIZADO, MARCA INSTRON, MODELO 4467.....	40
FIGURA 5 - ESTUDO DA TRAÇÃO EM CORPOS DE PROVA CONTENDO A ANASTOMOSE COLÔNICA.....	41
FIGURA 6 - ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA- EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS (AUMENTOS DE 10X).....	55

LISTA DE ABREVIATURAS

A	– grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico
A5	– animais do grupo A mortos no quinto dia de pós-operatório
A8	– animais do grupo A mortos no oitavo dia de pós-operatório
AD	– alça intestinal distal à anastomose
ADN	– ácido dextrorribonucleico
ANOVA	– análise de variância
AP	– alça intestinal proximal à anastomose
AP/AD	– razão entre os diâmetros entre AP e AD
C	– grupo controle
C5	– animais do grupo C mortos no quinto dia de pós-operatório
C8	– animais do grupo C mortos no oitavo dia de pós-operatório
CDDP	– cisdiaminodicloroplatina (cisplatina)
Cong.	– congestão
D	– grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico
D5	– animais do grupo D mortos no quinto dia de pós-operatório
D8	– animais do grupo D mortos no oitavo dia de pós-operatório
DP	– desvio padrão
DPCM	– diferença entre peso no dia do ato cirúrgico e peso no dia da morte
DPIC	– diferença entre peso inicial e peso no dia do ato cirúrgico
FMT	– força máxima de tração
FRC	– força de ruptura completa
g	– gramas
GR.	– grupos
HE	– hematoxilina-eosina
Kgf	– kilograma-força
Mono.	– infiltrado monomorfonuclear
n	– número de animais
Neutro.	– infiltrado neutrofílico

NS	– p estaticamente não significante
PC	– peso no dia do ato cirúrgico
PI	– peso inicial
PM	– peso no dia da morte
RTMI	– resistência tênsil mínima
RTMA	– resistência tênsil máxima
T. Gran.	– tecido de granulação
UFPR	– Universidade Federal do Paraná
μ	– média aritmética

LISTA DE SÍMBOLOS

$>$	– maior que
$<$	– menor que
$=$	– igual a
$+$	– mais que
\geq	– maior ou igual a
\leq	– menor ou igual a
\pm	– mais ou menos

RESUMO

A cisplatina é uma das drogas de primeira linha utilizada no tratamento do câncer de ovário. Na dependência do estágio da doença, é usada antes ou após o procedimento cirúrgico em que pode ser necessária a confecção de uma anastomose intestinal. Este estudo tem por objetivo avaliar o efeito da cisplatina sobre a cicatrização das anastomoses colônicas quando utilizada antes ou após a realização das mesmas. Foram utilizados 80 ratos Wistar divididos em três grupos: grupo controle (C), que foi submetido ao procedimento cirúrgico e recebeu solução salina nos 5 dias subsequentes incluindo o dia da operação; grupo que recebeu cisplatina intraperitoneal na dose de 0,035 mg/kg por 5 dias antes do procedimento cirúrgico (A) e grupo que recebeu cisplatina intraperitoneal na mesma dose por 5 dias, depois do procedimento cirúrgico (D). O procedimento cirúrgico constou de secção da alça colônica esquerda, 5 cm acima da reflexão peritoneal, e anastomose em plano único. Metade dos ratos foram mortos no quinto e a outra metade no oitavo dia de pós-operatório. Foram avaliados parâmetros clínicos, parâmetros mecânicos, e parâmetros histológicos. Não houve diferença significativa nos parâmetros clínicos entre os animais que receberam a cisplatina e os que não a receberam. A força máxima de tração (FMT) foi significativamente menor ($p=0,0001$) nos grupos que receberam cisplatina e foram mortos no quinto dia de pós-operatório (A5 e D5) em relação ao grupo controle (C5). A FMT não apresentou diferença entre os grupos que receberam cisplatina antes e depois do ato cirúrgico e foram mortos no oitavo dia de pós-operatório (A8 e D8) em relação ao grupo controle (C8). A média do índice do infiltrado neutrofílico foi significativamente maior ($p=0,0005$) no grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D) em relação ao grupo controle (C) e ao grupo que recebeu droga antes do procedimento cirúrgico (A). A diminuição da resistência da anastomose à tração apenas nos grupos A5 e D5 e o maior índice de infiltrado neutrofílico no grupo que recebeu cisplatina depois do ato cirúrgico sugerem que esta droga interfira no processo de cicatrização das anastomoses colônicas produzindo uma lentificação do mesmo.

Palavras-chave: Cisplatina; Anastomose Colônica; Cicatrização; Força de Tração

ABSTRACT

The ovarian cancer is one of the solid tumors most sensitive to chemotherapy. Cisplatin is the first line drug in the treatment of this neoplasia. Its use depends on the stage of the disease. This drug is often applied before or after a surgical procedure where a large bowel anastomosis is done. The objective of this trial is to evaluate the effect of the cisplatin on the healing of the colonic anastomosis. Eighty male Wistar rats were divided in three groups: the control group (C), the group that received intraperitoneal cisplatin injection for five days before the surgical procedure (A) and the group that received the cisplatin for five days after the surgical procedure (D). The cisplatin was used in the dose of 0,035 mg/kg. The large bowel was transected 5 cm above peritoneal reflection and it was anastomosed in one plan suture. Half of the animals were killed on the fifth day and the other half on the eighth day after the surgical procedure. Weight, postoperative evolution, abdominal wall infection, intraperitoneal adherence, stenosis and dehiscence of the anastomosis were evaluated according to clinical parameters. Another two parameters were evaluated: tensil strenght (measured by the Instron 4467 electronic machine) and histologic finds. There was no difference among the groups when it came to the clinical parameters. The groups that received cisplatin before and after the surgical procedure and were killed on the fifth postoperative day (A5 e D5) had a significative ($p=0,0001$) decrease in the maximal tensil strenght comparing with the control group (C5). There was no difference in the maximal tensil strenght among the groups killed on the eighth day. The average of the neutrophilic infiltrating index was significantly bigger ($p=0,0005$) in the group that received cisplatin after the surgical procedure (D) when compared with the control group (C) and the group that received cisplatin before the surgery (A). These findings suggest that cisplatin produces an impairment on the healing of the colonic anastomosis.

Key-words: Cisplatin; Large Bowel Anastomosis; Healing; Tensil Strenght

1 – INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O câncer de ovário é a quarta neoplasia maligna ginecológica em incidência nos Estados Unidos, respondendo por 4% do total dos cânceres femininos. Entretanto é a causa mais comum de óbito em mulheres com neoplasias ginecológicas ocasionando 6% do total de mortes por câncer e mais da metade dos óbitos por cânceres ginecológicos. Segundo PARKER *et al* (1996), em 1995 houve 26.600 novos casos de câncer de ovário e mais de 14.500 mortes. A prevalência desta doença nos EUA, conforme os relatos de CRAMER (1986), é 12 casos para cada 10.000 habitantes. É estimado que 1 em 70 mulheres (1,4%) desenvolverão câncer de ovário durante suas vidas. Conforme YANCIK (1993), os tipos histológicos mais comuns são os tumores epiteliais e a faixa etária de maior incidência é entre 60 e 65 anos. O câncer de ovário, no entanto, é um dos tumores sólidos mais sensíveis à terapêutica anticâncer; apesar disso possui a maior taxa de fatalidade por caso nas neoplasias ginecológicas malignas, provavelmente, segundo BEREK (1995), porque três quartos das pacientes são diagnosticados com doença em estágio avançado.

As pacientes com tumor de ovário são, na dependência do estágio clínico, submetidas à quimioterapia adjuvante logo após o ato operatório no qual com certa frequência são confeccionadas anastomoses intestinais. Ou, do contrário, são submetidas ao tratamento cirúrgico, nos quais são realizadas anastomoses intestinais, sob o efeito da quimioterapia, como ocorre nos casos em que se faz cirurgia citorrredutora de intervalo com quimioterapia de indução (BURG *et al*, 1995). Em ambas as situações, a cicatrização desta anastomose se dá sob efeito de droga quimioterápica. Além disso, nos casos avançados deste tumor, em que a quimioterapia é realizada de forma paliativa, são frequentes os casos de oclusões intestinais pelos implantes peritoneais da neoplasia. Nestes casos também, é muitas vezes necessário intervir cirurgicamente com realização de anastomoses intestinais estando esta paciente sob o efeito precoce de quimioterapia.

A utilização de cisplatina como terapia adjuvante precoce no câncer epitelial do ovário é fundamental para se obter maior sobrevida. No entanto, se interferir na cicatrização das anastomoses intestinais, freqüentemente presentes no tratamento do tumor de ovário, poderá produzir a complicação mais temível para estas pacientes que é a deiscência da anastomose com formação de fistula estercoral. Isto protelaria a continuidade no tratamento tendo efeitos catastróficos nos resultados terapêuticos da doença de base. Assim o conhecimento apurado da interferência da cisplatina na cicatrização das anastomoses intestinais é fundamental para se definir o momento correto para o início do tratamento adjuvante ou os riscos de uma anastomose realizada sob efeito de quimioterapia.

Poucos trabalhos encontrados na literatura estudaram experimentalmente a ação da cisplatina na cicatrização das anastomoses intestinais. ZUIDEWIJN e colaboradores (1986, 1991) investigaram a ação da cisplatina associada à bleomicina e ao 5-fluorouracil na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos. No entanto nenhum estudo utilizando apenas cisplatina com administração pré e pós-operatória foi encontrado na revisão da literatura. Desta forma, justifica-se avaliar experimentalmente a interferência deste quimioterápico isolado antes e após o ato cirúrgico sobre a cicatrização das anastomoses colônicas.

2 – OBJETIVO

2 OBJETIVO

Avaliar a influência do uso da cisplatina administrada intraperitonealmente no pré e pós-operatório sobre a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos Wistar adultos através dos seguintes métodos:

1. parâmetros clínicos,
2. método mecânico,
3. método histológico.

3 – REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 TRATAMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO

O tumor maligno do ovário se desenvolve e se espalha no interior da cavidade peritoneal. Estudos de BEREK *et al* (1984) sugerem que a cavidade peritoneal possa funcionar como sítio privilegiado do ponto de vista imunológico, onde há produção de fatores de crescimento. As células tumorais se espalham pela cavidade pélvica e a seguir atingem a cavidade abdominal, aí tendem a seguir o padrão de movimento do fluido peritoneal, como descrito por KNAPP *et al* (1974), da goteira parieto-cólica direita, de maneira ascendente, chegando à cúpula diafragmática direita. Desta maneira os sítios mais precocemente acometidos são o mesentério, alças intestinais, o omento e o peritônio parietal, podendo ocorrer inclusive aderências neoplásicas entre as alças intestinais.

O tratamento do câncer de ovário baseia-se inicialmente no procedimento cirúrgico com o objetivo de diagnóstico e do estadiamento correto. Preconiza-se já no primeiro ato operatório, sempre que possível, a ressecção do tumor primário por meio da histerectomia total ampliada e das metástases na cavidade peritoneal, pois, segundo MARTINEZ (1985), a quimioterapia pós-operatória é mais efetiva quando a doença residual for mínima, isto é, quando o diâmetro for menor que 0,5 cm (cirurgia citorrredutora ideal). Quando a cirurgia citorrredutora efetiva não for possível no primeiro ato cirúrgico deve-se, como preconizaram HOSKINS *et al* (1992) e VAN DER BURG *et al* (1995), proceder à quimioterapia e a seguir submeter o paciente novamente a cirurgia citorrredutora (cirurgia citorrredutora de intervalo) para ressecção de doença residual e complementação com quimioterapia, produzindo assim aumento significativo na sobrevida.

A eficácia na utilização de drogas quimioterápicas de maneira adjuvante no tratamento das doenças malignas, como o tumor de ovário, dependem

fundamentalmente da precocidade de seu início. Segundo FISHER, GUNDUZ e SAFFER em 1983 e HARRIS e MASTRANGELO em 1991 esta eficiência é inversamente proporcional ao tempo entre a realização da cirurgia e o início da quimioterapia.

A cisplatina é a droga de primeira linha utilizada no tratamento adjuvante do câncer de ovário, como relatam NEIJT *et al* (1984) e OMURA *et al* (1986) em seus trabalhos. A cisplatina mostrou melhores resultados em esquemas combinados; inicialmente associada com ciclofosfamida, e atualmente, de acordo com os estudos em andamento do Grupo de Ginecologia Oncológica (GOG - *Gynecologic Oncology Group*), associada aos taxanes como o paclitaxel.

Esta droga antineoplásica atua de maneira citotóxica nos tecidos em que há proliferação celular, especialmente nas linhagens celulares epiteliais. Tem papel fundamental no tratamento dos tumores desta linhagem celular do testículo, ovário, cabeça e pescoço, bexiga e pulmão.

3.2 MECANISMO DE AÇÃO DA CISPLATINA

Os complexos de coordenação da platina foram identificados pela primeira vez como agentes citotóxicos por ROSENBERG *et al.* em 1965. Estes autores observaram que uma corrente elétrica liberada entre eletrodos de platina produzia inibição da proliferação de colônias de *Escherichia coli*. Entre todos os derivados da platina isolados o mais ativo foi a cisdiaminodicloroplatina (CDDP). Estudos posteriores definiram a molécula de ácido dessorribonucléico (ADN) como alvo da ação dos complexos de coordenação da platina. Estes complexos de platina são capazes de reagir com o ADN formando ligações cruzadas intra e interfilamentares. O átomo N⁷ da guanina é muito reativo e quando na presença dos tais complexos de platina faz ligações cruzadas entre guaninas adjacentes do mesmo filamento de ADN. As moléculas de ADN formam complexos de adição com a platina ocasionando inibição da replicação e transcrição. Este processo tem como consequência

final a quebra e erros de codificação da molécula de ADN. Embora a especificidade da ação da cisplatina em relação à fase do ciclo celular parece diferir entre os vários tipos celulares, a produção de ligações cruzadas entre as moléculas de ADN é mais pronunciada na fase S.

3.3 CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS CIRÚRGICAS

A cicatrização é um processo de reparação comum a todas as feridas independentemente do agente que a produziu. CARREL, em 1910, fez a primeira descrição ordenada dos eventos da cicatrização que são aceitos até hoje. Em 1929, HOWES, SOOY e HARVEY introduziram algumas alterações à classificação de CARREL e definiram a cicatrização como fenômeno que se desenvolve em três etapas: fase inflamatória, fase de fibroplasia e fase de maturação. Atualmente, aceita-se que a cicatrização obedece a uma série de cinco eventos, sendo que se inicia com a fase inflamatória seguida pela fase de proliferação celular, formação do tecido conjuntivo, contração da ferida e remodelação da ferida (maturação da cicatriz), como descrito por ORGILL e DEMLING (1988).

A fase inflamatória é caracterizada inicialmente por vasoconstrição local decorrente de mediadores vasoativos, como o tromboxano A₂, liberados pelas plaquetas aderidas ao local onde houve lesão endotelial. A seguir ocorre vasodilatação tecidual local mediada pela ação das prostaglandinas. Com a vasodilatação começa haver saída de fluidos e macromoléculas para o interstício. O passo seguinte é a adesão de neutrófilos atraídos quimiotaticamente pelos mediadores da inflamação. Inicia-se aí o processo de “limpeza” da ferida através da lise dos tecidos desvitalizados e dos microorganismos presentes na ferida. As substâncias liberadas pelos neutrófilos começam atrair os macrófagos e monócitos. A partir daí, estas serão as células dominantes nos primeiros dias do processo inflamatório complementando a função de “limpeza” da ferida e orquestrando o início do processo de reparação da ferida.

A fase de proliferação celular, como um processo contínuo da fase anterior, inicia-se com o aparecimento dos primeiros fibroblastos atraídos pelos fatores liberados pelos macrófagos. Esta fase é marcada pela proliferação fibroblástica, pela angiogênese e pela epitelização; todos estes processos são decorrentes da multiplicação celular. Este processo é mediado pela liberação de fatores angiogênicos e de crescimento pelas células inflamatórias com descreveram BANDA, KNIGHTON, HUNT e WEBER em 1982.

A terceira fase, formação do tecido conjuntivo, é decorrente do início da produção de fibras de colágeno por parte dos fibroblastos. Conforme apresentado por HOWES, SOOY e HARVEY em 1929 e por BLURR, HARVEY e TAFFEL em 1938 os fibroblastos apresentam intenso processo proliferativo até por volta do oitavo dia, sendo que, a partir daí, inicia-se o processo de produção de colágeno com início da fase de maturação.

As últimas duas fases, contração e remodelação da ferida, são processos mais tardios responsáveis pela maturação da ferida. A primeira, decorrente da ação dos miofibroblastos, tem como consequência a redução no tamanho da lesão e a segunda, decorrente da formação de pontes entre as fibras de colágeno (*cross-links*), tem como consequência a formação da cicatriz madura.

HERMANN, WOODWARD e PULASKI, em 1964, observaram, em ratos, que a seqüência de eventos que ocorre na cicatrização das anastomoses digestivas é semelhante à que ocorre nos demais tecidos, sendo que a fase inflamatória estendeu-se até o quarto dia, a fase de fibroplasia até o décimo quarto dia e, a partir daí, a fase de maturação.

JIBORN, AHONEN e ZEDERFELDT, em seu artigo publicado em 1980, por meio da utilização de hidroxiprolina radiomarcada avaliaram o padrão de reparação das anastomoses colônicas em ratos. Observaram que há um intenso ciclo de síntese e degradação das fibras colágenas no início do processo de cicatrização da anastomose com um predomínio da degradação até o quarto dia de pós-operatório. Por volta do sétimo dia de pós-operatório o processo de síntese sobrepuja o de degradação. Observaram também que este processo cíclico de síntese e degradação do colágeno ocorre não só na área da

anastomose, mas também nos segmentos peri-anastomóticos, principalmente a nível proximal.

3.3.1 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização em geral

De WAARD, MAN, WOBBS, van der LINDEN e HENDRIKS, em 1998, em seu estudo *in vitro* com cultura de fibroblastos de pele de rato observaram acentuada supressão, dose-dependente, na síntese de ADN quando acrescentaram 5-fluorouracil a esta cultura celular por 72 horas. Esta inibição foi vista com uso de 5-fluorouracil na dose de 1 μ M, sendo que com dose de 20 μ M houve inibição de 50% da proliferação. Neste estudo ainda foi avaliado o levamisole, que também produziu efeito de inibição de proliferação fibroblástica, só que em concentrações maiores, cerca de 100 μ M. Ao ser utilizado sinergicamente, o levamisole potencializou o efeito do 5-fluorouracil. Ainda neste experimento estas drogas foram também utilizadas, nas mesmas concentrações, só que em cultura de fibroblastos confluentes, isto é, fora da fase de divisão celular, e não afetaram o número de células presentes na cultura. Os autores propuseram então que ambas as drogas isoladamente ou combinadas, na dependência da dose e do tempo de exposição, apresentam efeito inibidor sobre a função de fibroblastos ativos.

Outro estudo em cultura de fibroblasto de pele utilizando 5-fluorouracil, conduzido por HENDRIKS e cols., em 1993, também mostrou efeito inibitório deste quimioterápico sobre a proliferação fibroblástica. Neste experimento as culturas foram expostas ao 5-fluorouracil por 24, 48 e 72 horas. Na cultura exposta à droga por 24 horas a proliferação fibroblástica foi refratária à concentração de 50 μ M de 5-fluorouracil, corroborando com a idéia de que o tempo de exposição ao quimioterápico é fundamental para a obtenção do efeito de inibição da divisão celular.

3.3.2 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização de anastomoses intestinais

A interferência de drogas quimioterápicas no processo de cicatrização das anastomoses intestinais foi extensamente estudada por diversos autores por meio de diferentes metodologias com obtenção de resultados conflitantes. Estudos experimentais realizados em ratos, como os de GOLDMAN *et al* em 1969, de COHEN *et al* em 1975, ZUIDEWIJN *et al* em 1986 e em 1991, FUMAGALLI *et al* em 1989, GRAF *et al* em 1992, MARTENS *et al* em 1992, de WAARD *et al* em 1995 e KANELLOS *et al* em 1996, com utilização de diversas drogas antineoplásicas administradas antes, durante ou após um procedimento cirúrgico, nos quais foram realizadas anastomoses intestinais, mostraram que tais drogas afetaram o processo de cicatrização destas anastomoses. Já outros autores, como ASZODI *et al* em 1985, HILLAN *et al* em 1988, HANANEL *et al* em 1995 e KUZU *et al* em 1998 não confirmaram a interferência de tais drogas utilizadas no pré ou no pós-operatório de anastomoses intestinais em seus trabalhos experimentais.

GOLDMAN, LOWE e AL-SALEEN em 1969 estudaram o efeito do 5-fluorouracil na anastomose de intestino delgado de ratos. Os animais foram divididos em 4 grupos: grupo I (controle) recebeu salina intraperitonealmente após o ato cirúrgico e os grupos II, III e IV receberam 5 fluorouracil intraperitonealmente na dose de 25 mg/Kg administrados respectivamente por um ou dois dias, três dias e quatro ou cinco dias. Os animais foram mortos no 12º dia de pós-operatório e o segmento de íleo foi testado pelo método de resistência à tração da anastomose conforme a técnica descrita por FARHAT em 1958. Avaliaram também a presença de deiscência da anastomose. Observaram que o 5-fluorouracil interferiu prejudicando a cicatrização da anastomose ileal de maneira significativa ($p < 0,001$) pelo aumento de deiscência e diminuição da força de ruptura à tração da anastomose. Esta interferência foi dose dependente ($p < 0,001$ para os grupos III e IV)

COHEN, GABELNICK, JOHNSON e GOLDIN em 1975 mostraram que a ciclofosfamida e a adriamicina afetaram o processo de cicatrização da ferida cirúrgica em camundongos e sugeriram que esta interferência tenha ocorrido por meio de uma variedade de mecanismos, tais como: alteração no balanço nitrogenado, inibição da fibroplasia, prejuízo na epitelização, lentificação na contratura da ferida, produção diminuída de hidroxiprolina e colágeno, inibição do processo inflamatório, alterações na vascularização, impedimento da agregação plaquetária e deposição de fibrina, prejuízo na formação da rede de colágeno e promoção na infecção da ferida.

ZUIDEWIJN, WOBES, HENDRIKS, KLOMPMAKERS e BOER em 1986 realizaram um experimento utilizando bleomicina, cisplatina e 5-fluorouracil em ratos no qual estas drogas foram administradas por um período de 5 dias em três grupos de ratos. As doses utilizadas foram de 2, 0,35 e 10 mg/Kg respectivamente. O primeiro grupo foi submetido ao procedimento cirúrgico com anastomose em intestino delgado e cólon antes do início do ciclo de quimioterapia, o segundo grupo foi operado no terceiro dia do ciclo de quimioterapia e o último grupo foi submetido ao procedimento cirúrgico dois dias após o término do ciclo de quimioterapia. Os animais foram mortos no terceiro, sétimo e 21º dias de pós-operatório tendo sido avaliado a pressão de ruptura da anastomose e a quantidade de hidroxiprolina na anastomose. Os autores observaram que houve diminuição significativa ($p < 0,01$) na pressão de ruptura da anastomose no grupo que foi submetido às anastomoses intestinais durante o ciclo de quimioterapia sendo que os efeitos foram mais pronunciados nos animais mortos no sétimo dia pós-operatório. A dosagem de hidroxiprolina, que reflete a produção de colágeno na anastomose, também apresentou redução significativa ($p < 0,01$) nos três grupos submetidos à quimioterapia em relação ao grupo controle, sendo que os efeitos mais pronunciados também foram observados no sétimo dia pós-operatório.

O mesmo grupo de autores em 1991 avaliou a bleomicina, o 5-fluorouracil e a cisplatina administrados intraperitonealmente em ratos nas doses de 2, 10 e 0,35 mg/Kg, respectivamente, em um grupo e o dobro desta

dose no outro grupo, por um período de 5 dias. A seguir os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico com anastomose colônica e em intestino delgado e foram mortos no terceiro e no sétimo dias de pós-operatório. Foram aferidas a resistência da anastomose, por meio da pressão de ruptura da mesma, e a quantidade de hidroxiprolina na anastomose. Observou-se que em ambos os grupos houve diminuição significativa da pressão de ruptura das anastomoses tanto ileal ($p=0,0032$) quanto colônica ($p=0,0002$) e que esta diminuição foi dose-dependente, isto é, quanto maior a dose do quimioterápico, maior a diminuição. Também houve diminuição significativa da quantidade de hidroxiprolina nas anastomoses ileais ($p=0,0004$) e colônicas ($p=0,038$) nos grupos que receberam quimioterapia.

FUMAGALLI, TRABUCHI, SOLIGO, ROSATI, REBUFFAT, TONELLI, MONTORSI em 1989 estudaram o efeito da mitomicina C administrada nas doses de 2 mg/Kg administrada intraperitonealmente e 1,5 mg/Kg administrada endovenosamente, em ratos após a realização de anastomose ileal. Avaliaram a mortalidade pós-operatória por deiscência da anastomose, a resistência da anastomose (por meio da pressão de ruptura), quantidade de hidroxiprolina, microscopia ótica e espessura das fibras de colágeno à microscopia eletrônica. Observou-se que o índice de deiscência de anastomose foi significativamente maior ($p<0,01$) nos grupos que receberam quimioterapia em relação ao controle, inclusive com mortalidade significativamente maior ($p<0,01$). Os autores observaram também diminuição significativa ($p<0,01$) na pressão de ruptura em ambos os grupos que receberam quimioterapia, sendo marginalmente maior no grupo que recebeu droga intraperitoneal. O diâmetro das fibras de colágeno foi significativamente menor ($p<0,05$) nos grupos que receberam a mitomicina C. Os animais que receberam esta droga intraperitonealmente apresentaram maior intensidade dos achados histológicos de fase aguda com maior número de anastomoses na “fase proliferativa”.

GRAF, WEIBER, GLIMELIUS, JIBORN, PAHLMAN e ZEDERFELDT em 1992 avaliaram a interferência do 5-fluorouracil e do ácido

folínico na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Os grupos experimentais receberam injeção intraperitoneal de 5-fluorouracil, ácido folínico ou ambos imediatamente após o procedimento cirúrgico no qual foi realizada anastomose colônica. As doses utilizadas foram de 20 mg/Kg para o 5-fluorouracil e de 2 e 10 mg/Kg para o ácido folínico. Os animais foram mortos no terceiro e sétimo dias de pós-operatório tendo sido avaliadas as complicações anastomóticas, a resistência da anastomose e as concentrações de hidroxiprolina e mieloperoxidase. O índice de complicações anastomóticas (abscesso e deiscência) foi significativamente maior ($p<0,01$) no grupo que recebeu 5-fluorouracil associado ou não ao ácido folínico, porém não no que recebeu apenas ácido folínico. A resistência anastomótica foi mensurada através do tensiômetro de tração, sendo avaliada a força máxima de tração (força em que iniciou o rompimento da anastomose). Houve diminuição significativa desta variável no grupo que recebeu 5-fluorouracil isoladamente ($p<0,01$) e no grupo que recebeu 5-fluorouracil associado ao ácido folínico na dose de 10 mg/Kg ($p<0,05$), quando avaliados no sétimo dia pós-operatório. As concentrações de hidroxiprolina e mieloperoxidase (marcador da atividade leucocitária) também apresentaram queda significativa ($p<0,05$ e $p<0,01$ respectivamente) nestes dois grupos quando avaliados no sétimo dia pós-operatório.

MARTENS, HENDRIKS, WOBBS e DE PONT, em 1992, por meio de um estudo experimental *in vivo* em ratos, avaliaram o efeito de drogas citostáticas na cicatrização de anastomoses ileais e colônicas. Utilizaram 5-fluorouracil, bleomicina e cisplatina nas doses de 10, 2 e 0,35 mg/Kg respectivamente administradas intraperitonealmente ou endovenosamente por um período de 5 dias. Um grupo adicional recebeu dose intraperitoneal dobrada. No terceiro dia do curso de quimioterapia realizaram as anastomoses intestinais. Os animais foram mortos no terceiro e sétimo dias de pós-operatório. A cicatrização da anastomose foi avaliada através da mensuração da quantidade do colágeno no sítio anastomótico. Os autores encontraram um nível de colágeno significativamente menor ($p<0,001$) no grupo de animais

mortos no sétimo dia e que recebeu droga intraperitoenal na dose menor. O efeito não dependeu da dose. O grupo que recebeu droga endovenosamente recuperou o nível de colágeno na anastomose no sétimo dia.

De WAARD, MAN, WOBBS, van der LINDEN e HENDRIKS, em 1995, investigaram a ação do 5-fluorouracil, leucovorin e levamisole em anastomoses colônicas em ratos. Estabeleceram 5 grupos de ratos que, após o procedimento cirúrgico em que foram realizadas anastomoses ileal e colônica, receberam salina, 5-fluorouracil apenas, 5-fluorouracil e leucovorin, 5-fluorouracil e levamisole e levamisole apenas. Avaliaram a resistência da anastomose pelo método da pressão de ruptura, força de ruptura e dosagem de hidroxiprolina. Encontraram diminuição significativa da pressão de ruptura tanto na anastomose ileal ($p=0,02$) quanto na colônica ($p=0,01$) no grupo que recebeu 5-fluorouracil e levamisole. Houve também diminuição significativa na força de ruptura na anastomose ileal ($p=0,018$) no grupo que recebeu 5-fluorouracil associado ao leucovorin e na anastomose colônica ($p=0,038$) no grupo que recebeu 5-fluorouracil associado ao levamisole. Os autores propuseram que a interferência observada no processo de cicatrização da anastomose provavelmente se deve ao retardo na produção de mediadores celulares da resposta inflamatória e diminuição da síntese e maturação do colágeno provocada pelos quimioterápicos.

KANELLOS, KAVOUNI, ZARABOUKAS, ODISSEOS, GALOVATSEA e DADOUKIS, em 1996, estudaram os efeitos da administração de 5-fluorouracil com ou sem ácido folínico na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos quando administrados imediatamente após o procedimento cirúrgico. Os animais foram divididos em três grupos: controle, que recebeu salina, grupo experimental 2 que recebeu 5-fluorouracil na dose de 20 mg/Kg/dia nos primeiros dois dias de pós-operatório e o grupo 3 que recebeu 5-fluorouracil nas mesmas condições do grupo anterior e recebeu também ácido folínico na dose de 2 mg/Kg/dia, também por dois dias. Os animais foram mortos no terceiro, quinto e oitavo dias. O índice de deiscência da anastomose foi maior nos grupos 2 e 3 em relação ao controle ($p<0,05$).

Houve também redução significativa na pressão de ruptura dos grupos 2 e 3 em relação ao controle no quinto e oitavo dia ($p < 0,05$). Os autores observaram também que os achados histológicos de processo inflamatório agudo foram mais intensos nos grupos que receberam 5-fluorouracil. Não houve, no entanto, diferença significativa em nenhuma variável avaliada entre os grupos 2 e 3.

ASZODI e PONSKY, em 1985, conduziram experimento em ratos no qual os animais foram divididos em 4 grupos sendo um controle e três experimentais. Os animais foram submetidos à anastomose em intestino delgado. Os grupos de teste receberam, no pós-operatório imediato, 5-fluorouracil nas doses de 5, 10 e 20 mg aplicados diretamente na parede da alça intestinal, sendo metade da dose de cada lado da anastomose. Avaliaram a resistência da anastomose por meio da pressão de ruptura, análise histológica e as alterações microangiogáficas da anastomose. Não houve diferença estatística entre os grupos de estudo e o grupo controle.

HILLAN, NORDLINGER, BALLETT, PUTS e INFANTE, em 1988, realizaram experimento em 78 ratos divididos em 6 grupos, sendo 3 experimentais e 3 de controle. Os 3 grupos experimentais foram submetidos a anastomose colônica e receberam 5-fluorouracil na dose de 20 m/Kg por período de 5 dias sendo que no primeiro grupo a droga foi administrada nos primeiros 5 dias subseqüentes à cirurgia, incluindo este, no segundo grupo a droga foi administrada do terceiro ao sétimo dia e no terceiro grupo, do sétimo ao 11º dia pós-operatório. Todos os animais foram mortos no 14º dia de pós-operatório. Avaliaram peso, contagem de leucócitos, dosagem de hemoglobina, alterações intra-abdominais (aderências), deiscência de anastomose, pressão de ruptura da anastomose e mortalidade. Não observaram diferença significativa na resistência da anastomose nos diferentes grupos e em nenhum dos outros dados avaliados, exceto na contagem de leucócitos e dosagem de hemoglobina, que foi significativamente menor ($p < 0,05$) em todos os grupos que receberam 5-fluorouracil em relação aos controles.

HANANEL e GORDON em 1995 desenharam um estudo para avaliar os efeitos de 5-fluorouracil e do leucovorin na cicatrização de anastomoses

colônicas de ratos e determinar a segurança da realização de tais anastomoses durante ou logo após um ciclo de quimioterapia. Os autores dividiram os animais em 3 grupos experimentais e o grupo controle. O primeiro grupo experimental recebeu 10 mg/Kg de 5-fluorouracil e 10 mg/Kg de leucovorin uma vez por semana por 4 semanas e então foram submetidos à anastomose colônica. O segundo grupo experimental recebeu as mesmas drogas nas mesmas doses uma vez por semana por 6 semanas. Uma semana após o término do ciclo de quimioterapia, os dois grupos foram submetidos à anastomose colônica. No terceiro grupo experimental utilizaram-se as mesmas drogas, doses e período do segundo grupo, porém a anastomose colônica foi realizada duas semanas após o término do ciclo de quimioterapia. Os animais foram mortos no terceiro dia de pós-operatório em metade dos animais e no sétimo dia na outra metade, sendo avaliado a pressão de ruptura da anastomose. A ruptura ocorreu na anastomose em todos os animais testados no terceiro dia pós-operatório e nas adjacências da anastomose nos animais testados no sétimo dia. Não houve diferença significativa na pressão de ruptura entre os grupos experimentais e o grupo controle.

KUZU, KOKSOY, KALE, DEMIRPENÇE e RENDA, em 1998, promoveram experimento em ratos no qual 3 grupos destes animais foram submetidos a anastomoses colônicas para a avaliação da interferência do 5-fluorouracil na cicatrização desta anastomose. O primeiro grupo de animais (controle) foi submetido apenas ao procedimento cirúrgico, o segundo (*sham group*) recebeu injeção intraperitoneal de salina por 5 dias antes do ato cirúrgico e o grupo de estudo que recebeu 5-fluorouracil intraperitonealmente na dose de 20 mg/Kg por 5 dias antes do procedimento cirúrgico. Metade dos animais foram mortos no terceiro dia de pós-operatório e a outra metade no sétimo dia. O estudo avaliou a presença de complicações de ferida cirúrgica, de obstrução intestinal, de complicações anastomóticas, de aderências intraperitoneais, e aferiu a resistência anastomótica, a quantidade de hidroxiprolina e a atividade da mieloperoxidase na anastomose. Os dados de complicações de ferida cirúrgica (infecção e deiscência), oclusão intestinal e

complicações anastomóticas (estenose e deiscência) não apresentaram diferença significativa entre os grupos. A intensidade de aderência intraperitoneal, mensurada pelo índice de Knightly, também não apresentou diferença entre os grupos. A pressão de ruptura foi testada na anastomose e em segmento de cólon normal e a comparação entre grupos não mostrou significância estatística. Os dados de quantificação de hidroxiprolina e a atividade de mieloperoxidase, no entanto, apresentaram diminuição significativa ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente) no grupo que recebeu quimioterapia.

3.4 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES INTESTINAIS

As anastomoses intestinais podem ser avaliadas por uma série de métodos diferentes. Os mais utilizados na atualidade são parâmetros clínicos, mecânicos, histopatológicos e bioquímicos. Outros métodos menos comumente utilizados são os parâmetros microbiológicos, radiográficos, microangiográficos e de microscopia eletrônica.

3.4.1 Parâmetros clínicos

Os parâmetros clínicos levam em conta a evolução pós-operatória do animal e os achados intra-abdominais após a morte dos animais. Indicam, geralmente, o sucesso ou insucesso da anastomose e direta ou indiretamente refletem a presença de deiscência da anastomose o que, em última análise, é o que se procura avaliar nos experimentos em que se estuda cicatrização de anastomoses colônicas.

Os dados evolutivos mais comumente explorados são: ganho ou perda de peso, evolução pós-operatória (óbitos) e presença de infecção ou deiscência de ferida cirúrgica (parede abdominal).

À exploração da cavidade, os dados mais freqüentemente avaliados são: quantificação de aderências intra-abdominais e complicações anastomóticas (deiscência, abscesso peri-anastomótico e estenose), entre outros.

3.4.1.1 Peso

O ganho ou perda de peso interfere diretamente e de várias formas na avaliação das anastomoses intestinais.

A perda de peso pode interferir na evolução das anastomoses intestinais, quando, por exemplo, esta perda ocorre no pré-operatório determinando um grau de desnutrição o que, de certa maneira, acarretará em deficiência na cicatrização e, portanto, em chance maior de complicações anastomóticas. Neste caso a perda de peso seria o fator causal do maior índice de complicações anastomóticas.

LAW e ELLIS em 1990 conduziram um experimento avaliando o efeito da nutrição parenteral sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos com desnutrição protéica. Compararam 3 grupos de animais: um com dieta normal (A), outro com dieta hipoprotéica (B) e um terceiro com dieta hipoprotéica que receberam nutrição parenteral (C). Os animais foram submetidos a laparotomia com realização de anastomoses colônicas, sendo avaliada a resistência da parede abdominal à tração e a pressão de ruptura da anastomose. Ao comparar os grupos A e B em relação a esta última variável observou que a pressão de ruptura foi significativamente menor no grupo B ($p < 0,001$). Observaram ainda que o efeito deletério da dieta hipoprotéica nas anastomoses colônicas pode ser parcialmente revertido com a introdução de nutrição parenteral, pois no grupo C a pressão de ruptura foi significativamente maior que no grupo B, porém menor (não significativamente) que no grupo A. Os autores mostraram que a nutrição é um dos fatores determinantes da cicatrização das anastomoses colônicas e que se houver desnutrição a cicatrização destas anastomoses poderá ser afetada.

A cisplatina, como descrito por PRESTAYKO em 1981, é causadora de náusea e vômitos freqüentes e severos ocasionando um sério problema nutricional. A causa desta toxicidade não está plenamente estabelecida, mas trabalhos em modelos experimentais de HAWTHORN, OLSTER e ANDREWS (1988) mostram que a inervação visceral e os receptores da 5-hidroxitriptamina nas fibras aferentes viscerais desempenham um importante papel na mediação desta toxicidade.

Desta forma a utilização da cisplatina, ao produzir sintomas tais como náusea, vômito e inapetência, pode ocasionar déficit nutricional e conseqüentemente deficiência na cicatrização dos tecidos incluindo as anastomoses intestinais com mostraram LAW e ELLIS (1990).

Estudos experimentais para avaliar interferência de drogas quimioterápicas na cicatrização de anastomoses intestinais, como os de GRAF *et al* (1992) e de ZUIDEWIJN *et al* (1986 e 1991) mostraram que estas drogas interferiram com ganho de peso. Em ambos os estudos houve perda significativa de peso no pós-operatório nos grupos que receberam o quimioterápico antes ou depois do procedimento cirúrgico.

Embora o uso de tais drogas induza perda de peso e conseqüente estado carencial, KUZU *et al* (1998), bem como IRVIN *et al* (1974) e GRAF *et al* (1994) mostraram em seus trabalhos que este estado de déficit nutricional não é o único fator determinante na cicatrização das anastomoses intestinais. Neste aspecto, o estudo que GRAF *et al* (1994) realizaram comparando diversos grupos de ratos submetidos a anastomose colônicas sob efeito de 5-fluorouracil, associado ou não à desnutrição, apresentou resultados que sugerem que a desnutrição não é o fator mais importante na deficiência da cicatrização destas anastomoses e sim o uso do 5-fluorouracil.

3.4.1.2 Infecção de ferida cirúrgica

A presença de infecção de ferida cirúrgica foi complicação avaliada em diversos trabalhos nos quais se estudou a interferência de quimioterapia nas anastomoses colônicas. Embora seja esperado que animais expostos a drogas quimioterápicas tenham tendência maior de infecção, GRAF *et al* (1992) e KUZU *et al* (1998) não confirmaram esta observação. Nos estudos destes dois autores não houve incidência significativamente maior de infecção de ferida cirúrgica.

3.4.1.3 Evolução pós-operatória

A incidência de óbito representa indicador indireto de complicações anastomóticas como demonstrou FUMAGALLI *et al* (1989) em seu estudo no qual a mortalidade pós-operatória dos animais que receberam mitomicina intraperitoneal foi de 14,9% ($p < 0,01$), sendo todas as mortes devidas à deiscência da anastomose intestinal.

Este aumento na mortalidade devido a complicações anastomóticas não foi observado nos estudos de HILLAN *et al* (1988), no qual houve apenas um óbito por deiscência de anastomose (estatisticamente não significativo), e de HANANEL *et al* (1995), em que não houve óbitos.

3.4.1.4 Aderências intra-abdominais

A formação de aderências intra-abdominais reflete a capacidade de resposta inflamatória reparadora a uma agressão à cavidade peritoneal e de certa forma reflete a atividade do processo de cicatrização. O aspecto principal do índice de aderências, no entanto, está no fato de quando há deiscência da anastomose e vazamento do conteúdo intestinal há uma tendência de bloqueio do organismo através da formação de aderências. Assim, quanto maior a incidência de deiscência maior será o índice de aderência esperado.

Um método de sistematização para a avaliação de aderências intraabdominais foi proposto por KNIGHTLY, AGOSTINO E CLIFFTON em 1962. Os autores investigaram o efeito da fibrinolisina e da heparina na formação de aderências peritoneais, tendo atribuído índices para caracterizar

cada nível de intensidade de aderências e possibilitando assim sua aferição e a comparação entre os diversos grupos. Outro sistema de quantificação destas aderências é o descrito e utilizado nos estudos experimentais de anastomoses colônicas elaborado por van der HAMM, KORT, WEIJMA, van den INHG e JEECKEL (1992). Neste experimento os autores avaliaram o efeito de antibióticos na ação selante da fibrina na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

KUZU *et al* (1998), por meio da utilização do índice proposto por KNIGHTLY (1962), avaliaram a interferência do 5-fluorouracil administrado intraperitonealmente no pós-operatório de anastomose colônicas na formação de aderências intra-abdominais. Os autores não encontraram diferença significativa na média dos índices de aderências entre o grupo experimental, o grupo salina e o grupo controle.

3.4.1.5 Complicações anastomóticas (deiscência e estenose)

A deiscência com vazamento de líquido intestinal para a cavidade peritoneal é a complicação mais temida em uma anastomose intestinal.

A ocorrência desta deiscência está intimamente relacionada com o processo de cicatrização, pois há uma relação de proporcionalidade direta entre a ação de fatores que ocasionam prejuízo do processo cicatricial com a maior incidência de deiscência das anastomoses, como afirma GRAF *et al* (1992).

Quando, com a deiscência da anastomose, houver comunicação entre duas superfícies epiteliais com vazamento do líquido para outra superfície ou para outra cavidade, forma-se o que chamamos de fístula.

A deiscência da anastomose tem sido usada por vários autores como um critério de avaliação da interferência de drogas quimioterápicas na cicatrização de anastomoses intestinais. KUZU *et al* (1998) em seu trabalho utilizando 5-fluorouracil no pré-operatório de anastomoses intestinais avaliaram, entre outros critérios, a presença de complicações anastomóticas. Encontraram apenas um caso de deiscência da anastomose colônica que ocorreu no grupo que recebeu quimioterapia, este acontecimento isolado não foi significativo.

Outros autores, no entanto, avaliando a influência de drogas quimioterápicas no pós-operatório de anastomoses intestinais e utilizando a deiscência de anastomose como critério de avaliação da cicatrização de tais anastomoses encontraram resultados diferentes. Como é o caso de FUMAGALLI *et al* (1989) que, usando a mitomicina administrada intraperitoneal ou endovenosamente no pós-operatório de anastomoses intestinais, encontraram aumento significativo ($p<0,01$) na incidência de deiscência das anastomoses intestinais. O mesmo ocorreu com GRAF *et al* (1992) que, ao estudarem o efeito do 5-fluorouracil associado ou não ao ácido folínico administrados no pós-operatório de anastomoses colônicas, encontraram incidência significativamente maior de deiscência das anastomoses nos grupos que receberam 5-fluorouracil. KANELLOS *et al* (1996), utilizando 5-fluorouracil no pós-operatório de anastomoses colônicas, também encontraram aumento significativo ($p<0,05$) na deiscência destas anastomoses.

A estenose é outra complicação anastomótica que reflete alterações nas etapas da cicatrização, porém sua relação com o processo de causa-efeito que as drogas antineoplásicas exercem na cicatrização é menos direto do que na deiscência. Mesmo assim alguns autores como KUZU *et al* (1998), no artigo já explanado, avaliaram a incidência de estenose. Não encontraram diferença significativa na incidência de estenose entre os grupos.

3.4.2 Parâmetros mecânicos

O primeiro estudo visando a sistematização da avaliação da tensão das feridas cirúrgicas numa fase precoce da cicatrização foi feito por HOWES, SOOY e HARVEY em 1929. Nele os autores avaliaram a resistência da sutura em anastomoses intestinais na fase inicial de cicatrização e a habilidade da parede intestinal em conter a sutura realizada por meio de diferentes técnicas.

A avaliação da resistência das anastomoses intestinais por métodos mecânicos tem sido realizada mais freqüentemente por três técnicas: pressão de ruptura, tensão de explosão e força de ruptura.

3.4.2.1 Pressão de ruptura

Este método foi descrito pela primeira vez no início do século por CHLUMSKY e é atualmente bastante utilizado em estudos experimentais. A avaliação é feita no segmento do intestino onde foi realizada a anastomose, sendo que esta fica no meio do segmento. Uma das extremidades é adequadamente fechada e na outra se conecta uma bomba de insuflação. Através desta extremidade infunde-se líquido ou, mais comumente, insufla-se ar atmosférico até que haja ruptura da anastomose. A pressão em que ocorreu a ruptura é registrada por manômetro ou fisiógrafo. Este método pode ser aplicado no animal vivo anestesiado, sem rompimento das aderências ou no segmento de intestino ressecado; os resultados da pressão serão diferentes nos dois casos, porém ambos são aceitos e utilizados.

Outro método bastante simples e útil para avaliação da pressão de ruptura foi o descrito por CARRIL em 1970 e largamente utilizado a partir de então por diversos autores como MARTINS *et al* em 1993, ROCHA em 1989, SOUSA *et al* em 1991. Este método consta de um sistema em que pelo interior da alça intestinal passa-se um cilindro metálico, oco, com furos e fechado por uma rolha em uma das extremidades. Com um fio de cordonê fixa-se uma das extremidades da alça intestinal na rolha. Na outra extremidade do cilindro oco introduz-se outra rolha que envolve o cilindro sem permitir vazamento. Na extremidade livre do cilindro conecta-se um manguito que está ligado a um manômetro de mercúrio. O segmento de intestino é então colocado em uma cuba com líquido. Insufla-se ar pelo manguito que provoca a distensão do segmento de intestino contendo a alça e também provoca gradativamente a subida do nível de mercúrio no manômetro. A pressão atingida no manômetro quando começa o vazamento de ar pela anastomose é considerada a pressão de ruptura.

A pressão de ruptura avaliada pelos métodos supracitados ou por meio de outros métodos tem sido largamente utilizada na avaliação da interferência dos quimioterápicos na cicatrização das anastomoses intestinais. Estudos experimentais realizados em ratos, como os de ZUIDEWIJN *et al* em 1986 e em 1991, FUMAGALLI *et al* em 1989, de WAARD *et al* em 1995 e KANELLOS *et al* em 1996 utilizaram diversas drogas antineoplásicas administradas antes, durante ou após um procedimento cirúrgico com anastomoses intestinais, testando tais anastomoses por meio da pressão de ruptura. Estes autores mostraram que estas drogas afetam o processo de cicatrização das anastomoses colônicas, através da diminuição significativa da pressão de ruptura das anastomoses nos grupos que receberam os antineoplásicos. Já outros autores como ASZODI *et al* em 1985, HANANEL *et al* em 1995 e KUZU *et al* em 1998 não confirmaram a interferência das destas drogas utilizadas no pré ou no pós-operatório de anastomoses intestinais avaliadas através da utilização deste método.

3.4.2.2 Tensão de explosão

Esta é outra maneira de se aferir a resistência das anastomoses intestinais. A diferença entre a tensão e a pressão de ruptura é que a tensão leva em consideração o raio interno da alça intestinal no local da anastomose (Lei de Laplace – $T = PR$, onde T é a tensão, P é a pressão e R o raio). Conforme NELSEN *et al* (1974) e outros autores, a medida da tensão de ruptura é a medida mais representativa da resistência da anastomose à insuflação.

3.4.2.3 Força de ruptura

A força de ruptura é medida pela força de tração do segmento de tecido até que o mesmo se rompa. Este método foi inicialmente descrito por FAHART em 1958 e aprimorado por STALEY em 1961. Estes dois autores desenvolveram um dispositivo mecânico bastante simples para efetuar a tração do segmento de tecido. Posteriormente houve um aprimoramento do método com o desenvolvimento de um dispositivo eletro-mecânico, como o descrito

por JONSSON em 1983, com maior precisão para a aferição da força de ruptura. Este autor introduziu a utilização da força de tração para a avaliação da resistência das anastomoses em processo de cicatrização. Mais recentemente houve o desenvolvimento do método mecânico computadorizado de alta precisão para determinação da força de ruptura, como no trabalho de IKEUCHI em 1999.

A utilização do método de força de tração para avaliação da resistência das anastomoses intestinais, como proposto por JONSSON em 1983, se dá pela fixação das extremidades do segmento de intestino no aparelho seguida da tração até que haja a ruptura deste segmento no local onde há a anastomose. Há duas maneiras de se exercer a tração; uma com aumento contínuo da força, como descrito por BLOMQUIST (1984), e outra com aumento da força em intervalos. A força de ruptura pode ainda ser avaliada submetendo-se todo o segmento de intestino contendo a anastomose com descrevem LEITE *et al* (1993), NARESSE *et al* (1987,1988 e 1993) e VERDESSE *et al* (1993) ou apenas uma porção do segmento intestinal contendo a anastomose como descreve HERMANN *et al* (1964).

STALEY, 1961, utilizando a técnica descrita por FARHAT *et al* em 1958, avaliou a influência do 5-fluorouracil na cicatrização de feridas cirúrgicas. O estudo avaliou ratos divididos aleatoriamente em 4 grupos: grupo I, o controle; grupo II, que recebeu ração em quantidade limitada após cirurgia; grupo III, que recebeu apenas injeções intramusculares de 5-fluorouracil e grupo IV, que recebeu ração em quantidade limitada e droga. O procedimento cirúrgico constou de laparotomia mediana de 5 cm de extensão, com sutura imediata. Os ratos receberam a droga na dose de 75 mg/Kg, imediatamente após o procedimento e cirúrgico e no dia seguinte. Foram mortos no sétimo dia pós-operatório. Um segmento da parede abdominal contendo a linha de sutura íntegra foi ressecado. A aferição da força necessária para produzir ruptura da linha de sutura foi feita pelo aparelho descrito por FARHAT *et al* em 1958. Este aparelho consta de dois cliques de pressão onde foram presas as bordas do segmento da parede abdominal ressecado contendo a linha de sutura na sua

porção mediana. O clipe da extremidade superior permanecia fixo enquanto o clipe da extremidade superior era preso a um recipiente distensível ao qual era administrado líquido a uma velocidade constante de 250 ml/min até que houvesse ruptura do segmento de parede abdominal. A quantidade de líquido necessária para produzir a ruptura determinava o valor da força de ruptura. Os autores encontraram uma diminuição significativa ($p < 0,005$) na força de ruptura no grupo que recebeu a droga (grupo III) em relação ao controle (grupo I). Desta forma, concluíram que o 5-fluorouracil interfere no processo de cicatrização das feridas cirúrgicas.

Em 1987 um grupo de pesquisadores brasileiros liderados por NARESSE idealizou um aparelho de tração para avaliar a força de ruptura das anastomoses intestinais. Os autores idealizaram este aparelho baseado no extensômetro de resistência elétrica (Strain Gauge). Para testar o aparelho os autores utilizaram 32 cães submetidos à anastomose de intestino delgado e aleatoriamente divididos em quatro grupos. Os animais foram mortos no terceiro, sétimo, 14º e 21º dia de pós-operatório. Foram ressecados dois segmentos de alça de delgado, o primeiro contendo a anastomose (segmento pós-operatório) e outro sem anastomose (pré-operatório). Ambos segmentos foram independentemente submetidos a tração no aparelho referido. O aparelho foi ajustado e aferido com diferentes escalas de peso com o objetivo de testar sua precisão. As leituras de força de ruptura não apresentaram diferenças frente à adição e retirada dos pesos padrões nas aferições de 100 a 600 gramas. Ao realizarem a regressão linear dos resultados obtidos encontraram um erro de leitura inferior a 2%. A força de tração não variou significativamente no segmento sem anastomose. O mesmo não ocorreu no segmento com anastomose, em que a força de ruptura apresentou intensidade progressiva e foi significativamente diferente nos grupos avaliados no terceiro, sétimo e 14º dia de pós-operatório ($p < 0,01$, $P < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente) quando comparada com a força de ruptura do segmento intestinal sem anastomose. A força de ruptura no grupo de animais mortos no 21º dia não apresentou diferença entre os grupos testados sem anastomose.

Outro trabalho realizado pelo mesmo grupo de autores em 1988 avaliou, através do método de aferição da força de ruptura acima descrito, anastomoses em intestino delgado de cães realizadas por três técnicas diferentes: sutura em plano único extramucoso com pontos separados ou contínua e sutura contínua em dois planos. As anastomoses foram realizadas com as três técnicas diferentes em pontos distintos do intestino delgado de cada animal. Os 32 cães foram divididos em quatro grupos e mortos no terceiro, sétimo, 14º e 21º dias de pós-operatório. Foram também aferidas a quantidade de hidroxiprolina e a avaliação histológica. Não houve diferença significativa na força de ruptura das anastomoses comparando-se as três técnicas.

Métodos semelhantes têm sido usados por alguns autores em estudos experimentais para avaliação de drogas antineoplásicas na cicatrização de anastomoses colônicas. GRAF *et al* em 1992, por meio da utilização de um tensiômetro produzindo uma força de tração contínua de 0,03-0,05 N s⁻¹, avaliou a interferência do 5-fluorouracil associado ou não ao ácido folínico na cicatrização de anastomoses colônicas. Neste estudo os grupos experimentais receberam injeção intraperitoneal de 5-fluorouracil, ácido folínico ou ambos imediatamente após o procedimento cirúrgico no qual foi realizada uma anastomose colônica. As doses utilizadas foram de 20 mg/Kg para o 5-fluorouracil e de 2 e 10 mg/Kg para o ácido folínico. Os animais foram mortos no terceiro e sétimo dia de pós-operatório. Foram avaliados, entre outros dados, a resistência da anastomose por meio da força de ruptura. Houve diminuição significativa desta variável no grupo que recebeu 5-fluorouracil isoladamente ($p < 0,01$) e no grupo que recebeu 5-fluorouracil associado com ácido folínico na dose de 10 mg/Kg ($p < 0,05$) quando avaliados no sétimo dia pós-operatório.

Outros investigadores, no entanto, utilizando métodos semelhantes não encontraram interferência das drogas quimioterápicas na cicatrização das anastomoses intestinais. Este é o caso de HILLAN *et al* que, em 1988, utilizando o método de força de ruptura anastomótica descrito por STALEY em 1961, avaliaram a interferência do 5-fluorouracil na cicatrização das anastomoses colônicas. Dividiram 78 animais em 6 grupos, sendo 3

experimentais e 3 de controle. Os 3 grupos experimentais foram submetidos a anastomose colônica e receberam 5-fluorouracil na dose de 20 mg/Kg por um período de 5 dias sendo que no primeiro grupo a droga foi administrada nos primeiros 5 dias subsequentes à cirurgia, incluindo este. No segundo grupo a droga foi administrada do terceiro ao sétimo dia e no terceiro grupo, do sétimo ao 11º dia pós-operatório. Todos os animais foram mortos no 14º dia de pós-operatório. Avaliaram, entre outros dados, a força de ruptura da anastomose. Não observaram diferença significativa nesta variável nos diferentes grupos.

Um estudo recente, conduzido por IKEUCHI, ONODERA, AUNG, KAN, KAWAMOTO, IAMAMURA e MAETANI (1999), compararam a correlação entre a força tênsil (força de ruptura) e a pressão de ruptura. Os autores submeteram 56 ratos à ressecção de segmento de cólon com anastomose término-terminal. Os ratos foram então randomizados em 6 grupos que foram mortos em seis períodos diferentes: imediatamente após o procedimento cirúrgico e no terceiro, quarto, quinto, sétimo e 14º dias de pós-operatórios. O segmento de intestino contendo a anastomose foi simultaneamente testado com relação à pressão de ruptura, por meio da utilização de uma bomba de infusão (SP-60, Nipro, Tokyo), e com relação à força de ruptura, por meio de um tensiômetro (TB 611-T, Nihon Koden, Tokyo). O espécime teve uma de suas extremidades fechada por uma rolha de plástico e conectada ao tensiômetro e a outra extremidade foi conectada à bomba de infusão. Foi exercida uma tração leve para esticar o segmento intestinal, a seguir iniciou-se a insuflação com ar, foi considerada a pressão de ruptura (PR) quando houve vazamento de ar com formação de bolhas dentro da solução em que encontrava o segmento de intestino. Após isto, o ponto de vazamento era selado com adesivo de cianacrilato e iniciava-se a tração do espécime pelo tensiômetro. Era então aferida a resistência tênsil mínima (RTMI), que foi considerada a primeira queda transitória na curva de força de tração significando o início da ruptura da anastomose, e a resistência tênsil máxima (RTMA), que foi considerada a força de tração máxima atingida na tração significando a ruptura da anastomose. Os autores dividiram a avaliação

em dois grupos diferentes: o primeiro, dos animais mortos nos primeiros 4 dias de pós-operatório, considerado como fase inicial da cicatrização e o segundo dos animais mortos do quinto dia em diante, considerado como fase fibroplásica da cicatrização. No primeiro grupo houve correlação pobre entre as variáveis de pressão de ruptura e de força de ruptura ($p = 0,23$), porém o segundo grupo apresentou alto índice de correlação entre as variáveis ($p < 0,004$). A partir deste estudo os autores propuseram que a RTMI seria a melhor variável para avaliar a cicatrização das anastomoses colônicas, sendo importante determinante da resistência destas anastomoses.

3.4.3 Parâmetros histológicos

A microscopia ótica é um método de avaliação da evolução de processo de cicatrização das anastomoses intestinais utilizado com frequência nos estudos experimentais. Seu valor é, em geral, subestimado, pois este método permite avaliação de todos os passos do processo cicatricial. O inconveniente consta no fato de que este método é subjetivo. Porém, em mãos experientes que analisem de maneira imparcial é possível extrair dados passíveis de quantificação; fundamentais para avaliação e comparação do processo de cicatrização.

O processo de reparação pode ser avaliado, através da técnica de coloração com hematoxilina-eosina (HE), por diferentes indicadores, tais como: exudato neutrofílico, edema intersticial, necrose de mucosa, necrose transmural, deposição de fibrina, congestão vascular, infiltrado monomorfonuclear, atividade regenerativa da mucosa, proliferação fibroblástica, neoformação vascular, processo granulomatoso e fibrose intersticial.

SOUSA, em 1994, e OLIVEIRA, em 1995, utilizaram o parâmetro histológico em seus trabalhos para avaliação do processo de cicatrização de anastomoses colônicas em coelhos e ratos, respectivamente. Ambos estudaram

os parâmetros expostos anteriormente classificando-os e quantificando-os, de acordo com sua presença e intensidade, em ausente, leve, moderado ou intenso.

4 – MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 MATERIAL

4.1.1 Animais

Foram utilizados 80 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Roentia Mammalia*), do sexo masculino, adultos, com peso corporal variando entre 195 e 280 gramas, provenientes do Biotério do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná. Os animais foram confinados em grupos de seis em cada gaiola (caixa de polipropileno) forrada com serragem e receberam água e ração *ad libitum* (FIGURA 1). As condições ambientais do laboratório eram: temperatura de 22° C e ciclo claro-escuro de 12 horas. Os animais foram mantidos no Laboratório de Cirurgia Experimental da Pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), onde também os procedimentos cirúrgicos foram realizados.

FIGURA 1 – ANIMAIS DISPOSTOS EM SUAS GAIOLAS NO LABORATÓRIO DE CIRURGIA EXPERIMENTAL DA PÓS-GRADUAÇÃO DA UFPR.



4.1.2 Droga quimioterápica

A droga utilizada foi a Cisplatina [CDDP ou Cisdiaminodicloroplatina - (Dabur Índia, Badi, Salan, Índia)] na dose de 0,35 mg/Kg/dia em injeção intraperitoneal. A administração foi feita com técnicas de anti-sepsia no quadrante inferior esquerdo do abdome do animal. Foi utilizada solução de 0,035 mg/ml da droga, diluída em solução salina isotônica 0,9%

4.2 MÉTODO

4.2.1 Grupos

Os ratos foram divididos em 3 grupos.

O grupo C – controle – (n=24) foi submetido ao procedimento cirúrgico e recebeu injeção intraperitoneal de 2 ml de solução salina isotônica 0,9% nos 5 dias subseqüentes incluindo o dia da operação.

O grupo A – antes – (n=24) recebeu injeção intraperitoneal de cisplatina por cinco dias e foi operado no dia seguinte ao término do ciclo de quimioterapia.

O grupo D – depois – (n=24) recebeu injeção intraperitoneal de cisplatina por cinco dias com início no dia do procedimento cirúrgico.

4.2.2 Procedimento cirúrgico

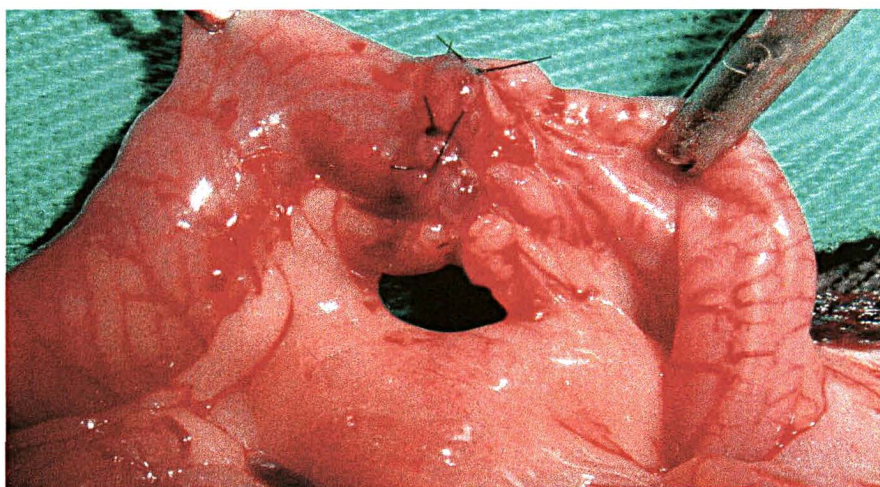
Pré-operatório: todos os animais foram submetidos a jejum de 12 horas prévias ao procedimento cirúrgico com o objetivo de diminuir o conteúdo fecal no intestino grosso do rato, local em que foi feita a anastomose.

Per-operatório: A anestesia foi feita com éter etílico por via inalatória. Após a anestesia os animais foram pesados e identificados. Procedeu-se então à tricotomia abdominal e posterior fixação do animal à mesa cirúrgica com os membros em extensão. Na seqüência realizou-se anti-sepsia abdominal polivinilpirrolidona-Iodo a 10%. Os animais foram mantidos anestesiados durante todo o procedimento cirúrgico com éter etílico por via inalatória,

tomando-se cuidado para utilizar a dose suficiente, isto é, a dose na qual o animal não desenvolvesse depressão respiratória fatal ou não tivesse superficialização do nível de consciência. Por meio de uma incisão abdominal mediana de cerca de 4 cm de extensão obteve-se acesso à cavidade abdominal. Procedeu-se à localização do cólon esquerdo e, a cerca de 5 cm acima da reflexão peritoneal, efetuou-se a secção completa do segmento colônico com dissecação e proteção da arcada vascular. A reconstrução (FIGURA 2) foi feita com anastomose término-terminal em plano único total extramucoso por meio de sutura interrompida utilizando 8 pontos de fio monofilamentar Paralon 6 X 0 (Paramed Suturas, São Paulo, SP, Brasil). O fechamento da parede deu-se com sutura contínua com fio monofilamentar Paralon 3 X 0 (Paramed Suturas, São Paulo, SP, Brasil) em dois planos: músculo-aponeurótico e subcuticular, não ancorados.

Durante o procedimento cirúrgico houve morte de 4 ratos sendo dois animais do grupo controle, um do grupo que recebeu droga depois do ato operatório e um que recebeu droga antes do ato operatório, os três primeiros ratos foram substituídos por novos animais com as mesmas características já descritas.

FIGURA 2 – SEGMENTO DE CÓLON APÓS A CONFECÇÃO DA ANASTOMOSE TÉRMINO-TERMINAL.



Pós-operatório: Após a recuperação anestésica cada animal foi recolocado na gaiola, onde voltou a receber, após uma hora de pós-operatório, água e ração *ad libitum* e permaneceu, sob condições já citadas de temperatura e iluminação, até o dia em que foram mortos. Na água foi colocada dose de analgésico à base de paracetamol. Os ratos foram inspecionados diariamente no período da manhã procedendo-se à avaliação da ferida e à injeção de cisplatina ou salina, de acordo com o grupo.

Houve 5 óbitos no pós-operatório: 2 do grupo controle, 2 do grupo que recebeu droga depois do procedimento cirúrgico e 1 do grupo que recebeu droga antes do ato operatório. Todos os animais que evoluíram a óbito foram submetidos à necropsia.

4.2.3 Morte dos animais

Metade dos animais de cada grupo foram mortos no quinto dia de pós-operatório e a outra metade no oitavo dia pós-operatório. Os animais foram mortos com dose letal de éter etílico inalatório. Após isto, realizou-se laparotomia mediana com acesso à cavidade abdominal. Na sequência, após inspeção da cavidade abdominal, procedeu-se à lise de aderências e à retirada de um segmento de 4 cm de comprimento de intestino grosso contendo a anastomose na porção média (FIGURA 3). Os espécimes cirúrgicos foram conservados em solução salina isotônicas e conduzidos ao laboratório do Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC).

FIGURA 3 – SEGMENTO DE CÓLON RESSECADO DO ANIMAL MORTO NO OITAVO DIA PÓS-OPERATÓRIO.



Os ratos do grupo controle que foram mortos no quinto dia de pós-operatório foram denominados C5 e os do oitavo dia de pós-operatório foram denominados C8. Da mesma maneira procede-se para os animais que receberam cisplatina antes do procedimento cirúrgico sendo denominados A5 e A8 e para os animais que receberam cisplatina depois do ato cirúrgico sendo denominados de D5 e D8.

Alguns animais tiveram suas anastomoses rompidas fora da linha de anastomose; estes animais foram excluídos do grupo de avaliação sendo que os grupos foram, no final, compostos da seguinte maneira: C5 com 11 animais, C8 com 10 animais, A5 com 11 animais, A8 com 11 animais, D5 com 10 animais e D8 com 10 animais.

4.2.4 Dados avaliados

4.2.4.1 – Peso

Os ratos tiveram seus pesos aferidos no dia inicial, isto é, no momento em que foram trazidos do biotério para o Laboratório de Cirurgia Experimental da Pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Paraná, no dia do procedimento cirúrgico e no dia em que foram mortos. A balança utilizada para tal aferição estava regulada de acordo com os padrões do INMETRO. Os valores de peso foram mensurados e assinalados em gramas.

Como o aspecto nutricional e a ingesta protéico-calórica são fundamentais nos processos de cicatrização, optou-se por avaliar as diferenças de peso entre os dias inicial e da cirurgia (DPIC) e entre os dias da cirurgia e o dia que foram mortos (DPCM) para melhor avaliar a evolução do peso dos animais em relação ao ganho ou à perda.

4.2.4.2 – Infecção em ferida cirúrgica

Considerou-se como infecção de ferida cirúrgica a presença de secreção purulenta na incisão abdominal. Este dado foi observado diariamente no pós-operatório até o dia em que foram mortos.

4.2.4.3 Evolução pós-operatória

Foram computados os óbitos de cada grupo. Os animais que evoluíram a óbito foram submetidos à necropsia.

4.2.4.4 – Aderências intra-abdominais

Após a laparotomia inspecionou-se a cavidade abdominal quanto à presença de aderências, que foram quantificadas segundo o índice de Knightly (KNIGHTLY 1962):

Grau 0 – ausência de aderências.

Grau 1 – aderência única, fina e facilmente separável.

Grau 2 – aderências em pequena extensão, fracas e que se rompem com pequena tração.

Grau 3 – aderências viscerais extensas que se estendem até à parede.

Grau 4 – aderências numerosas, extensas e densas que envolvem o mesentério, intestino, omento e parede abdominal.

4.2.4.5 - Presença de complicações na anastomose (deiscência ou estenose)

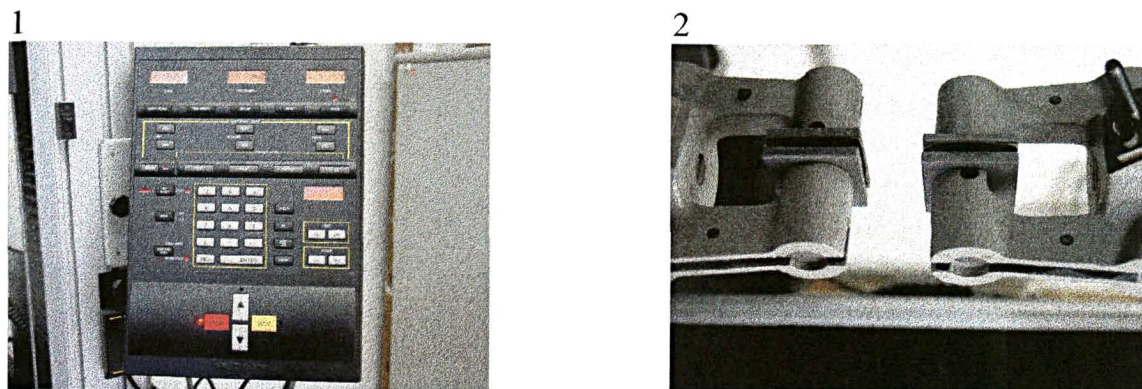
A deiscência da anastomose foi considerada presente quando se observou secreção intestinal no interior da cavidade peritoneal ou quando houve abscesso peri-anastomótico.

A estenose da anastomose foi definida como um estreitamento em que a razão da largura da alça intestinal proximal à anastomose em relação à distal foi ≥ 2 .

4.2.4.6 - Força tênsil de ruptura da anastomose colônica

A avaliação da força de tensão da anastomose foi realizada no laboratório do Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC).

FIGURA 4 – MÁQUINA UNIVERSAL DE ENSAIO MECÂNICO COMPUTADORIZADO, MARCA INSTRON, MODELO 4467.

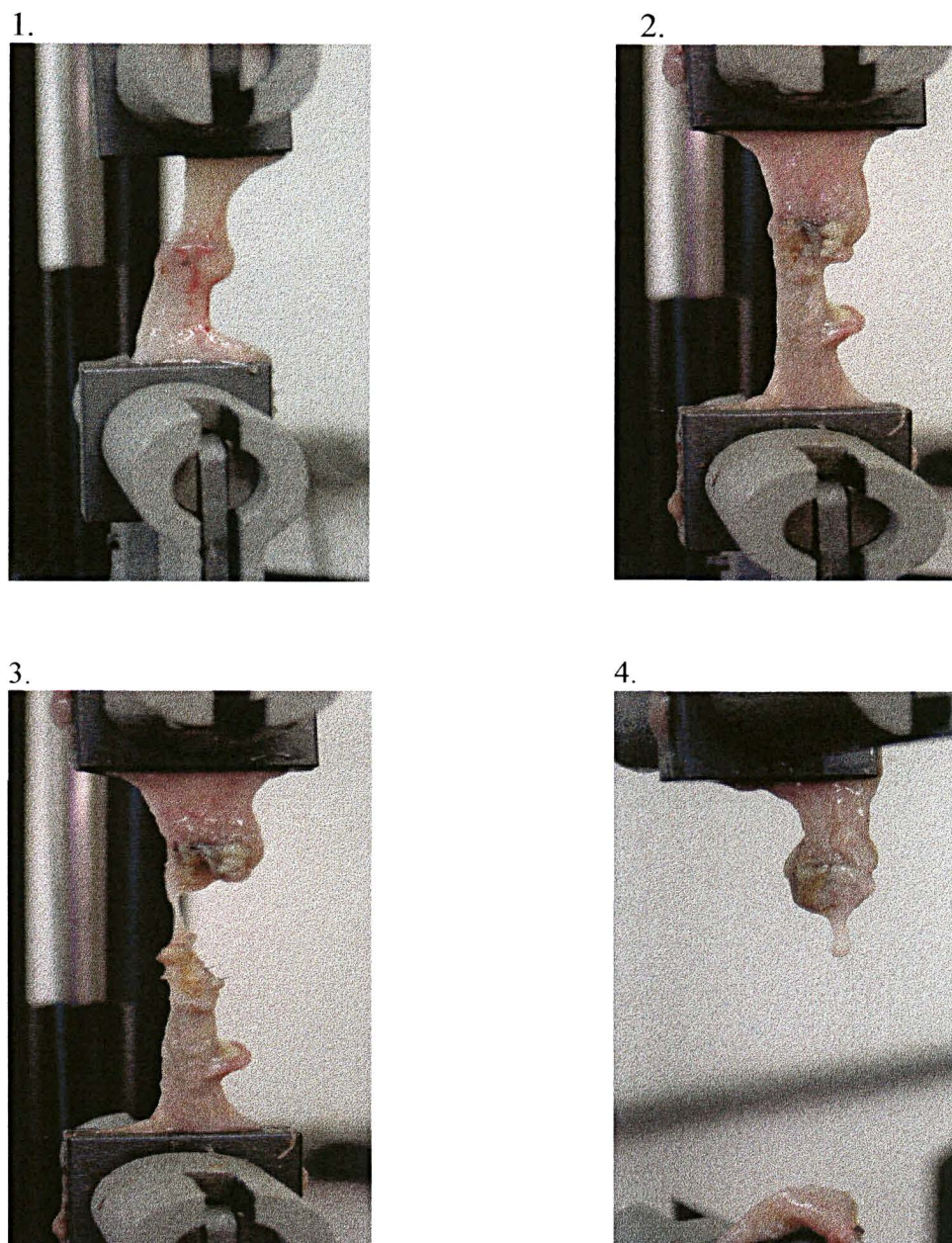


NOTA: 1- painel de controle da máquina de tração
2- garras de pressão pneumática

Para a avaliação desta força foi utilizada uma máquina universal de ensaio mecânico computadorizada, da marca Instron, modelo 4467 (Instron, London, UK), com garras de pressão pneumática e sistema eletrônico de aquisição de dados com utilização de *software* Instron série IX e placa GPIB (FIGURA 4).

O segmento de alça colônica foi fixado com suas extremidades presas às garras, contendo a anastomose na porção média do segmento livre da alça. A tração ocorreu com velocidade de 50 mm/minuto. Foi utilizada uma carga de 10 Kg com sensibilidade de 50 gramas, com uma margem de erro de 0,5%. As variáveis avaliadas foram: força máxima de tração (FMT) em Kgf e força de ruptura completa (FRC) em Kgf. A FMT foi considerada como a força máxima atingida durante a tração em que começou haver ruptura do tecido. A FRC é a força na qual houve ruptura completa do segmento de tecido. A FIGURA 5 mostra detalhes de ruptura durante a tração do segmento de cólon contendo a anastomose.

FIGURA 5 – ESTUDO DA TRAÇÃO EM CORPOS DE PROVA CONTENDO A ANASTOMOSE COLÔNICA.



Nota: 1 – segmento colônico contendo a anastomose em sua porção mediana, preso em suas extremidades às garras da máquina de tração; 2 – início do processo de ruptura da anastomose pela tração; 3 – ruptura praticamente completa da anastomose; 4 – término do processo de tração pela ruptura completa do segmento colônico na anastomose

As duas variáveis de força (FMT e FRC) foram submetidas a três análises diferentes. A primeira, englobando todos os animais que receberam

cisplatina em relação ao grupo controle. A segunda, tendo os animais distribuídos em três subgrupos: animais que receberam a cisplatina antes do ato cirúrgico (A), animais que receberam a cisplatina depois do ato cirúrgico (D) e os animais do grupo controle (C). A terceira análise constou da divisão dos animais em seis subgrupos, isto é, os grupos A, D e C foram subdivididos entre os animais que foram mortos no quinto e os que foram mortos no oitavo dia de pós-operatório.

4.2.4.7 - Avaliação histológica

Após o teste na máquina de aferição de força tênsil o material foi imediatamente fixado em formalina a 10% para avaliação histológica. Os cortes histológicos foram feitos com espessura de 4 μ m e corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE). Este método teve o objetivo de avaliar o tipo e quantidade das células predominantes na reação inflamatória (infiltrados polimorfonuclear e monomorfonuclear), presença de edema intersticial e congestão vascular e o grau de formação tecido de granulação e de fibrose.

Os dados obtidos pela técnica de HE foram classificados em “abundantes”, “moderados”, “discretos” e “ausente”, de acordo com a intensidade em que foram encontrados, e transformados em variáveis quantitativas através da atribuição de índice aos achados histológicos. As presenças de edema, congestão e células neutrofílicas foram indicativas de processo inflamatório agudo. Já as presenças de tecido de granulação, fibrose e células monomorfonucleares foram achados determinantes de processo inflamatório crônico. Aos índices do processo inflamatório agudo foi atribuído sinal negativo e aos índices do processo inflamatório crônico foi atribuído sinal positivo. A atribuição dos índices ocorreu como mostra a TABELA 1.

TABELA 1: CLASSIFICAÇÃO E ATRIBUIÇÃO DE ÍNDICES AOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HE (HEMATOXILINA-EOSINA).

Achados de HE	Intensidade dos achados			
	Abundante	Moderado	Discreto	Ausente
Neutrófilos	-3	-2	-1	0
Edema	-3	-2	-1	0
Congestão	-3	-2	-1	0
Monomorfonucleares	3	2	1	0
Tecido de granulação	3	2	1	0
Fibrose	3	2	1	0

Após a atribuição dos índices, procedeu-se à somatória destes, de maneira que cada grupo de animais teve um índice definitivo. Este índice definitivo foi novamente classificado, como mostra a TABELA 2.

TABELA 2: CARACTERIZAÇÃO DOS TIPOS DE PROCESSO INFLAMATÓRIO DE ACORDO COM O ÍNDICE SOMATÓRIO FINAL DE CADA GRUPO.

Tipo de Processo inflamatório	Índice final de classificação
Agudo	- 9,0 a -3,1
Subagudo	-3,0 a 3,0
Crônico	3,1 a 9,0

Os achados histológicos foram analisados de duas maneiras. A primeira contendo a divisão em três subgrupos: grupo controle (C), grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) e grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D). A segunda dividindo tais achados em seis subgrupos: os grupos C, A e D foram subdivididos entre os animais que foram mortos no quinto e os que foram mortos no oitavo dia de pós-operatório.

4.2.5 – Análise estatística

As variáveis quantitativas como peso e força tênsil foram avaliados pela análise de variância de médias (ANOVA). Foram utilizadas duas metodologias de ANOVA para a comparação das médias: análise paramétrica e a análise não-paramétrica. A análise paramétrica foi utilizada quando os dados de determinada variável preencheram os pré-requisitos para tal análise: (a) independência, isto é, os dados foram obtidos de unidades em separado, (b) distribuição normal (Gaussiana) e (c) homocedasticidade, isto é, que as variâncias

fossem constantes entre os grupos. Na análise paramétrica utilizou-se o teste de Tukey. A análise não-paramétrica foi utilizada nas variáveis em que os pré-requisitos não foram atendidos. Para esta metodologia utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. Algumas variáveis qualitativas foram transformadas em variáveis quantitativas pela atribuição de índices, tais como a presença de aderências aferidas pelo índice de Knighthly e os dados da avaliação histológica e também submetidos à análise de variância de médias (ANOVA), utilizando as metodologias supracitadas. Os resultados obtidos da avaliação de variáveis qualitativas como a evolução, presença ou não de infecção de ferida cirúrgica e de complicações anastomóticas (deiscência ou estenose) foram comparados pelo teste do Qui quadrado. O grau de significância estatística foi estabelecido como sendo menor que 5%.

5 – RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 PESO

As médias e os desvios padrões de peso para cada grupo foram calculados e estão apresentados na TABELA 3. O aspecto evolutivo do peso durante o experimento está apresentado no GRÁFICO 1. A média de peso inicial foi de $229 \pm 13,97\text{g}$ para o grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A), de $240,1 \pm 21,73\text{g}$ para o grupo que recebeu droga depois do ato operatório (D), e de $245,57 \pm 24,05\text{g}$ para o grupo controle (C). A média do peso inicial foi significativamente menor para o grupo que recebeu droga antes do ato operatório (A) em relação ao controle (C) e ao grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D), sendo $p=0,0295$.

A média de peso no dia do procedimento cirúrgico foi de $235,38 \pm 14,46\text{g}$ para o grupo A, de $248,7 \pm 21,83\text{g}$ para o grupo D e de $257,72 \pm 32,47\text{g}$ para o grupo C. Embora tenha ocorrido ganho de peso em todos os grupos entre o dia inicial e o dia do procedimento cirúrgico, houve persistência da média de peso significativamente menor ($p=0,0146$) para o grupo que recebeu cisplatina antes do ato cirúrgico (A) em relação ao controle (C) e ao grupo que recebeu droga depois do ato operatório (D).

No dia em que foram mortos, a média de peso dos animais foi de $233,13 \pm 12,22\text{g}$ para o grupo A, de $234,9 \pm 19,98\text{g}$ para o grupo D e de $246,28\text{g}$ para o grupo C. Não houve diferença significativa na média de peso entre os grupos no dia da morte dos animais.

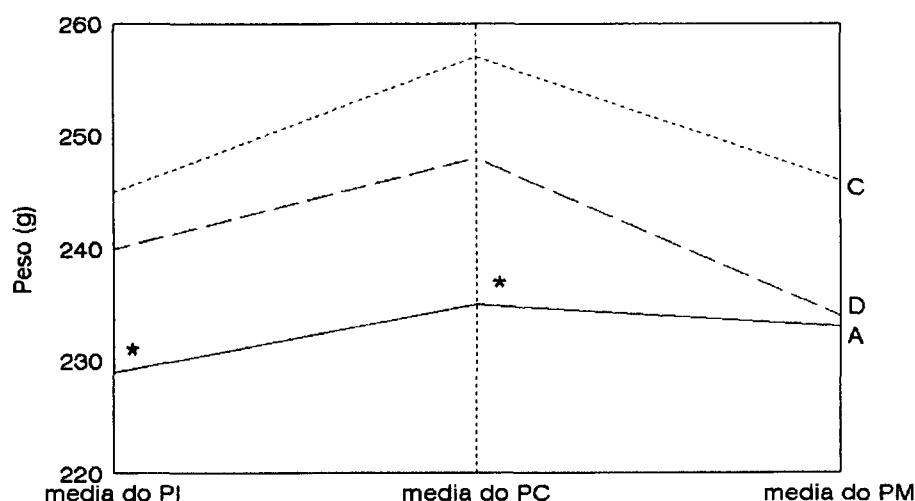
TABELA 3: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS A (QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO), D (QUE RECEBERAM DROGA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO) E C (GRUPO CONTROLE).

Grupo (n)	Peso inicial (PI) ± DP de PI (g)	Peso na cirurgia (PC) ± DP de PC (g)	Peso dia da morte (PM) ± DP de PM (g)
C (n=21)	245,57 ± 24,05	257,72 ± 32,47	246,28 ± 26,85
A (n=22)	229 ± 13,97 §	235,38 ± 14,46 ¶	233,13 ± 12,22
D (n=20)	240,1 ± 21,73	248,7 ± 21,83	234,9 ± 19,98

NOTA: PI – peso inicial PC – peso no dia da cirurgia PM – peso no dia da morte. DP – desvio padrão, n – n.º de animais, g - gramas

- (1) § - Diferença com $p=0,0295$ na média do peso inicial (PI) do grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) em relação ao controle (C) e ao grupo que receberam cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D).
 (2) ¶ - Diferença com $p=0,0146$ na média do peso no dia da cirurgia (PC) do grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) em relação ao controle (C) e ao grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D).

GRÁFICO 1: EVOLUÇÃO DAS MÉDIAS DOS PESOS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS A (QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO), D (QUE RECEBEU DROGA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO) E C (GRUPO CONTROLE).



NOTA: PI – peso inicial PC – peso no dia da cirurgia PM – peso no dia da morte.
g – gramas

- (1) * Diferença com $p<0,05$ nas médias de peso do grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) em relação ao controle (C) e ao grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D).

5.1.1 Diferença de peso

A média da diferença entre os pesos iniciais e os pesos no dia do procedimento cirúrgico (DPIC) foi de $6,68 \pm 8,12\text{g}$ para o grupo A, de $8,6 \pm 4,47\text{g}$ para o grupo D e de $11,95 \pm 16,71\text{g}$ para o grupo C, sendo que houve ganho de peso em todos os grupos (TABELA 4). Não houve diferença significativa da DPIC entre os grupos.

A média da diferença entre os pesos no dia do procedimento cirúrgico e os pesos no dia da morte (DPCM) foi de $-13,8 \pm 13,04\text{g}$ para o grupo D, de $-11,23 \pm 10,95\text{g}$ para o grupo C e de $-2,54 \pm 12,65\text{g}$ para o grupo A. A DPCM foi significativamente menor no grupo A em relação aos demais ($p=0,0142$).

TABELA 4: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DAS DIFERENÇAS ENTRE PESO INICIAL E NO DIA DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (DPIC) E ENTRE O PESO NO DIA DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E NO DIA DA MORTE (DPCM).

Grupo (n)	DPIC \pm DP de DPIC	DPCM \pm DP de DPCM
C (n=21)	$11,95 \pm 16,71$	$-11,23 \pm 10,95$
A (n=22)	$6,68 \pm 8,12$	$-2,54 \pm 12,65$ §
D (n=20)	$8,6 \pm 4,47$	$-13,8 \pm 13,04$

NOTA: DP- desvio padrão, n – n.º de animais, C – grupo controle, A – grupo que recebeu cisplatina antes do ato cirúrgico, D – grupo que recebeu cisplatina depois do ato cirúrgico

(1) § - Diferença com $p=0,0142$ da DPCM entre o grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) em relação ao grupo que recebeu a cisplatina depois do ato cirúrgico (D) e ao grupo controle (C).

5.2 INFECÇÃO DE FERIDA CIRÚRGICA

A incidência de infecção de ferida cirúrgica, apresentados na TABELA 5, foi de 2 casos para os grupos D5 e C8, 1 caso para o grupo A5 e nenhum caso para os grupos C5, A8 e D8. Não houve diferença significativa em relação ao índice de infecção de ferida cirúrgica ($p=0,38$).

TABELA 5: INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO DE FERIDA CIRÚRGICA NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).

Grupo	Infecção de ferida cirúrgica	p
C5 (n = 11)	0	0,38
C8 (n = 10)	2	
A8 (n = 11)	0	
A5 (n = 11)	1	
D5 (n = 10)	2	
D8 (n = 10)	0	

NOTA: n – n.º de animais, p – nível de significância estatística

5.3 EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA

O critério avaliado foi evolução a óbito no pós-operatório. Houve 5 óbitos neste período (TABELA 6): 2 do grupo controle, 2 do grupo que recebeu droga depois do procedimento cirúrgico e 1 do grupo que recebeu droga antes do ato operatório. Todos os animais foram submetidos à necropsia sendo que todos apresentavam peritonite decorrente de deiscência da anastomose. Não houve diferença na incidência de óbito em relação aos diferentes grupos.

TABELA 6: INCIDÊNCIA DE ÓBITOS NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).

Grupos	Óbitos	p
C5 (n = 11)	1	NS
C8 (n = 10)	1	
A5 (n = 11)	0	
A8 (n = 11)	1	
D5 (n = 10)	1	
D8 (n = 10)	1	

NOTA: n – n.º de animais, p – nível de significância estatística, NS – não significativo

5.4 ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS

As aderências intra-abdominais tiveram suas médias calculadas e comparadas entre os grupos (TABELA 7). As médias dos índices de aderência foram de 1,9 para o grupo C5, de 2,0 para o grupo D5, de 2,1 para o grupo A8, de 2,2 para o grupo C8, de 2,3 para o grupo A5 e 2,6 para o grupo D8. Não houve diferença significativa com relação ao nível de aderência entre os grupos ($p=0,626$).

TABELA 7: MÉDIA DOS ÍNDICES DE ADERÊNCIA NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).

Grupo	Média dos índices de aderências	p
C5 (n=11)	1,9	0,626
C8 (n=10)	2,2	
A5 (n=11)	2,3	
A8 (n=11)	2,1	
D5 (n=10)	2,0	
D8 (n=10)	2,6	

NOTA: n – n.º de animais, p – nível de significância estatística

5.5 COMPLICAÇÕES ANASTOMÓTICAS (DEISCÊNCIA E ESTENOSE)

A deiscência (TABELA 8) teve incidência de 4 casos para o grupo A5, 2 casos para os grupos C8, A8 e D8 e de 1 caso para os grupos C5 e D5. Não houve diferença significativa na incidência de deiscência entre os grupos ($p=0,496$).

A estenose da anastomose (TABELA 8) ocorreu em 6 animais do grupo C5, em 4 animais do grupo A5, em 3 animais do grupo D8 e em 2 animais dos grupos C8 e D5. O grupo A8 não apresentou nenhum caso de estenose. A incidência de estenose da anastomose também não foi diferente entre os grupos ($p=0,160$).

TABELA 8: INCIDÊNCIA DE COMPLICAÇÕES ANASTOMÓTICAS (DEISCÊNCIA E ESTENOSE) NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).

Grupo	Deiscência	p	Estenose	p
C5 (n = 11)	1	0,496	6	0,160
C8 (n = 10)	2		2	
A5 (n = 11)	4		4	
A8 (n = 11)	2		0	
D5 (n = 10)	1		2	
D8 (n = 10)	2		3	

NOTA: n – n.º de animais, p – nível de significância estatística

Quando se comparou a média das razões entre o diâmetro da alça intestinal proximal à anastomose (AP) em relação ao diâmetro da alça intestinal distal à anastomose (AD) observou-se uma variância pequena. A média destas razões variou de 1,65 para o grupo A5 a 1,89 para o grupo C5 (TABELA 9). Não houve diferença significativa em relação à razão dos diâmetros ($p=0,1970$).

TABELA 9: MÉDIA DAS RAZÕES DOS DIÂMETROS DA ALÇA INTESTINAL PROXIMAL (AP) EM REALÇÃO À DISTAL (AD) NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTOCIRÚRGICO (D5 E D8).

Grupo	Média das razões AP/AD	p
C5 (n = 11)	1,89	0,1970
C8 (n = 10)	1,69	
A5 (n = 11)	1,65	
A8 (n = 11)	1,45	
D5 (n = 10)	1,51	
D8 (n = 10)	1,76	

NOTA: n – n.º de animais, p – nível de significância estatística

5.6 FORÇA TÊNSIL DE RUPTURA

A força máxima de tração (FMT) e a força de ruptura completa (FRC) foram analisadas de três maneiras diferentes. A primeira constou da divisão dos animais em dois grupos: o que recebeu cisplatina (antes ou depois do procedimento cirúrgico) e o controle. Os resultados obtidos, como mostrado na TABELA 10, em relação à FMT foram de $0,205 \pm 0,051$ Kgf no grupo controle e de $0,164 \pm 0,059$ Kgf no grupo que recebeu cisplatina, sendo a diferença estatisticamente significativa com $p=0,0290$. A FRC (TABELA 10) foi de $0,060 \pm 0,042$ Kgf para o grupo controle e de $0,065 \pm 0,035$ Kgf para o grupo que recebeu cisplatina; a diferença não foi significativa.

TABELA 10: MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NOS GRUPOS CONTROLE E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA (ANTES E DEPOIS DO ATO CIRÚRGICO).

Grupo	Força Máxima Tração – FMT (Kgf)	Força de Ruptura Completa – FRC (Kgf)
	Média \pm DP	Média \pm DP
Controle (n = 21)	$0,205 \pm 0,051$	$0,060 \pm 0,042$
Cisplatina (n = 42)	$0,164 \pm 0,059$ §	$0,065 \pm 0,035$

NOTA: Kgf - kilograma-força, DP – desvio padrão, n – n.º de animais

(1) § - a FMT foi significativamente menor ($p=0,0290$) no grupo que recebeu cisplatina em relação ao controle.

A segunda etapa da análise das forças de tração (FMT e FRC) foi realizada com a divisão dos animais que receberam cisplatina em dois grupos: antes (A) e depois (D) do procedimento cirúrgico (TABELA 11). A FMT foi de $0,205 \pm 0,051$ Kgf para o grupo controle (C), de $0,162 \pm 0,068$ Kgf para o grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) e de $0,168 \pm 0,05$ Kgf para o grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D). A FMT foi significativamente menor ($p=0,0124$) nos grupos A e D em relação ao controle (C). A FRC apresentou os seguintes resultados: $0,060 \pm 0,042$ Kgf para o grupo controle (C), $0,080 \pm 0,039$ Kgf para o grupo que recebeu

cisplatina antes do ato operatório (A) e $0,048 \pm 0,021$ Kgf para o grupo que recebeu cisplatina depois do ato cirúrgico (D). A FRC foi significativamente menor no grupo D em relação aos grupos A e C ($p=0,0013$).

TABELA 11: MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NO GRUPO CONTROLE (C), NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO ATO CIRÚRGICO (D).

Grupo	Força Máxima Tração – FMT (Kgf)		Força de Ruptura Completa – FRC (Kgf)	
	Média \pm DP		Média \pm DP	
C (n = 21)	$0,205 \pm 0,051$		$0,060 \pm 0,042$	
A (n = 22)	$0,162 \pm 0,068$	§	$0,080 \pm 0,039$	
D (n = 20)	$0,168 \pm 0,05$	§	$0,048 \pm 0,021$	¶

NOTA: Kgf - kilograma-força, DP – desvio padrão, n – n.º de animais

(1) § - a FMT foi significativamente menor ($p=0,0124$) nos grupos que receberam cisplatina antes (A) e depois (D) do ato cirúrgico em relação ao controle (C).

(2) ¶ - a FRC foi significativamente menor ($p=0,0013$) no grupo que recebeu cisplatina após o ato operatório (D) em relação ao grupo que recebeu cisplatina antes do ato operatório (A) e ao grupo controle (C).

Na terceira forma de análise das forças de tração os resultados foram subdivididos em seis subgrupos de acordo com o momento que receberam cisplatina ou salina (A,D,C) e de acordo com o dia da morte (quinto e oitavo dias de pós-operatório). A FMT, como apresentada na TABELA 12 e GRÁFICO 2, foi de $0,198 \pm 0,0472$ Kgf no grupo C5, de $0,2127 \pm 0,0573$ Kgf no grupo C8, de $0,1141 \pm 0,0593$ Kgf no grupo A5, de $0,2101 \pm 0,0361$ Kgf no grupo A8, de $0,1468 \pm 0,0511$ Kgf no grupo D5 e de $0,1893 \pm 0,0414$ Kgf no grupo D8. A FMT foi significativamente menor nos grupos A5 e D5 em relação ao grupo C5 ($p=0,0001$).

A FRC (TABELA 12) foi de $0,0455 \pm 0,0306$ Kgf no grupo C5, de $0,0469 \pm 0,019$ Kgf no grupo D5, de $0,0507 \pm 0,025$ Kgf no grupo D8, de $0,0592 \pm 0,0274$ Kgf no grupo A5, de $0,0765 \pm 0,0495$ Kgf no grupo C8 e de $0,1007 \pm 0,0396$ Kgf no grupo A8. Não houve diferença significativa em relação à FRC quando os animais foram separados em seis subgrupos.

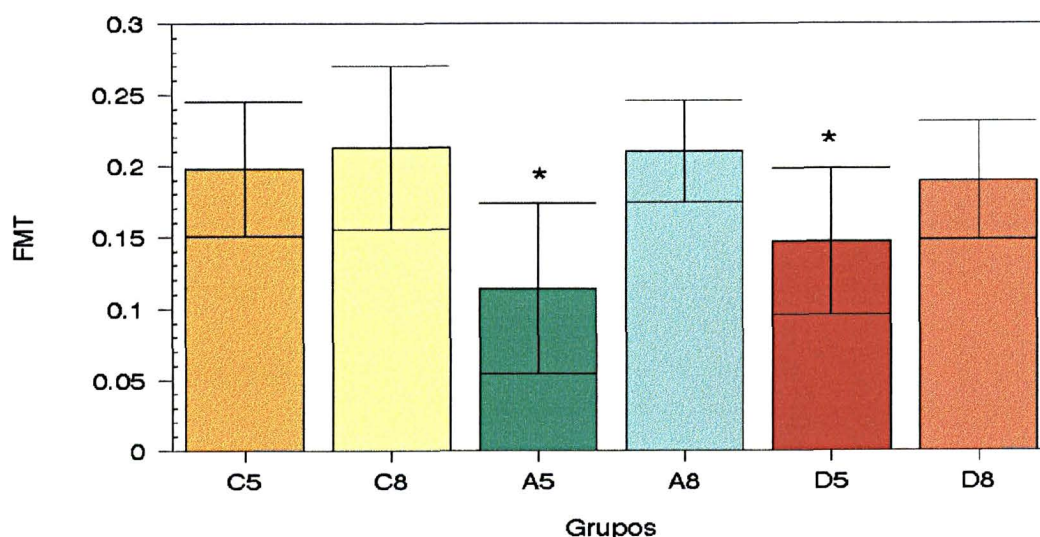
TABELA 12: MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO ATO CIRÚRGICO (D5 E D8).

Grupo	Força Máxima Tração – FMT		Força de Ruptura Completa – FRC
	(Kgf)		(Kgf)
	Média ± DP		Média ± DP
C5 (n = 11)	0,198 ± 0,0472		0,0455 ± 0,0306
C8 (n = 10)	0,2127 ± 0,0573		0,0765 ± 0,0495
A5 (n = 11)	0,1141 ± 0,0593	§	0,0592 ± 0,0274
A8 (n = 11)	0,2101 ± 0,0361		0,1007 ± 0,0396
D5 (n = 10)	0,1468 ± 0,0511	§	0,0469 ± 0,019
D8 (n = 10)	0,1893 ± 0,0414		0,0507 ± 0,025

NOTA: Kgf - kilograma-força, DP – desvio padrão, n – n.º de animais

(1) § - a FMT foi significativamente menor ($p=0,0001$) nos grupos A5 e D5 em relação ao controle C5.

GRÁFICO 2: MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO ATO CIRÚRGICO (D5 E D8).

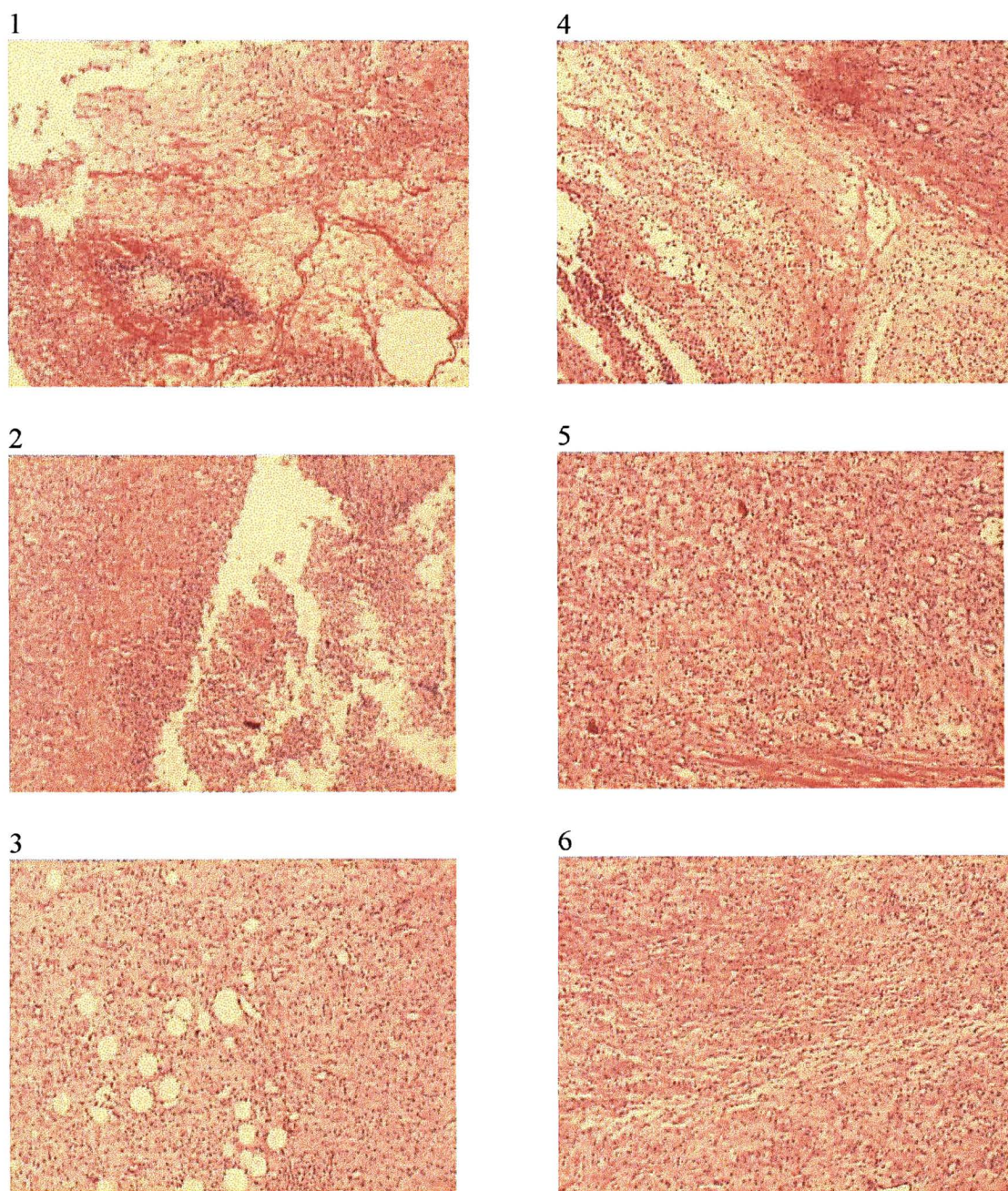


NOTA: * - a FMT (em Kgf) foi significativamente menor ($p=0,0001$) nos grupos A5 e D5 em relação ao controle C5.

5.7 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

A FIGURA 6 apresenta exemplos dos achados histológicos obtidos pela análise microscópica das anastomoses colônicas de diferentes espécimes oriundos de ratos mortos no quinto e oitavo dias de pós-operatório.

FIGURA 6 – ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS (AUMENTOS DE 10X).



NOTA: 1 – edema intersticial; 2 – infiltrado neutrofilico; 3 – congestão vascular;
4 – tecido de granulação; 5 – infiltrado monomorfonuclear; 6– fibrose

Os animais de cada grupo receberam os índices de valores dos achados histológicos, tendo sido calculada a média e o desvio padrão de cada um destes achados, conforme apresentado nas TABELAS 13 e 14.

Os resultados dos achados histológicos estão apresentados de acordo com a divisão em três e seis subgrupos. A primeira análise levou em consideração a divisão em três subgrupos [grupo controle (C), grupo que recebeu cisplatina antes do ato cirúrgico (A) e grupo que recebeu cisplatina depois do ato cirúrgico (D)], como mostrado na TABELA 13.

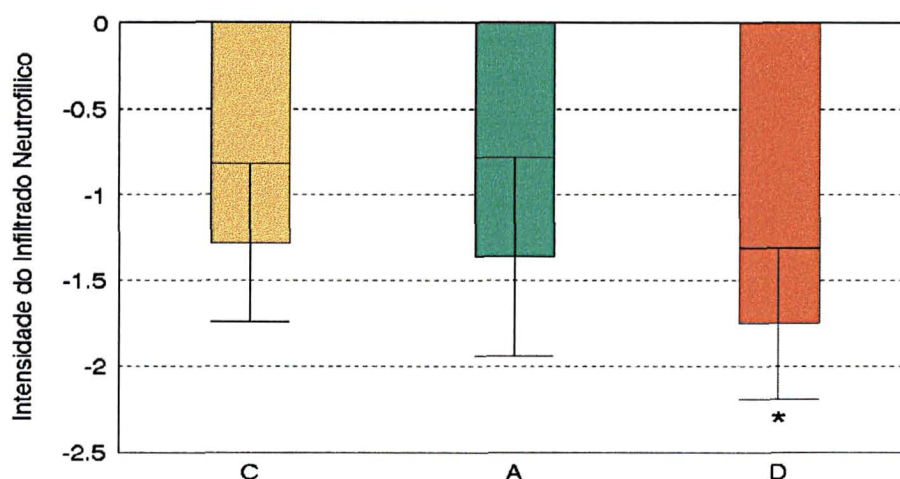
TABELA 13: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NO GRUPO CONTROLE (C), NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D).

GRUPO (n)	NEUTRO. $\mu \pm DP$	EDEMA $\mu \pm DP$	CONG. $\mu \pm DP$	MONO. $\mu \pm DP$	TEC. GRAN. $\mu \pm DP$	FIBROSE $\mu \pm DP$	SOMA $\mu \pm DP$
C (21)	$-1,28 \pm 0,46$	$-0,76 \pm 0,53$	$-1 \pm 0,31$	$2,04 \pm 0,38$	$2,14 \pm 0,96$	$2,14 \pm 0,91$	$3,28 \pm 1,64$
A (22)	$-1,36 \pm 0,58$	-1 ± 0	-1 ± 0	2 ± 0	$2,40 \pm 0,66$	$1,95 \pm 0,72$	$3 \pm 1,69$
D (20)	$-1,75 \pm 0,44$	-1 ± 0	-1 ± 0	$2,2 \pm 0,41$	$2,25 \pm 0,78$	$2,05 \pm 0,68$	$2,75 \pm 1,29$

NOTA: Neutro. – infiltrado neutrofilico, Cong. – congestão, Mono. – infiltrado monomorfonuclear, Tec. Gran. – tecido de granulação, n – n.º de animais, μ - média, DP – desvio padrão.

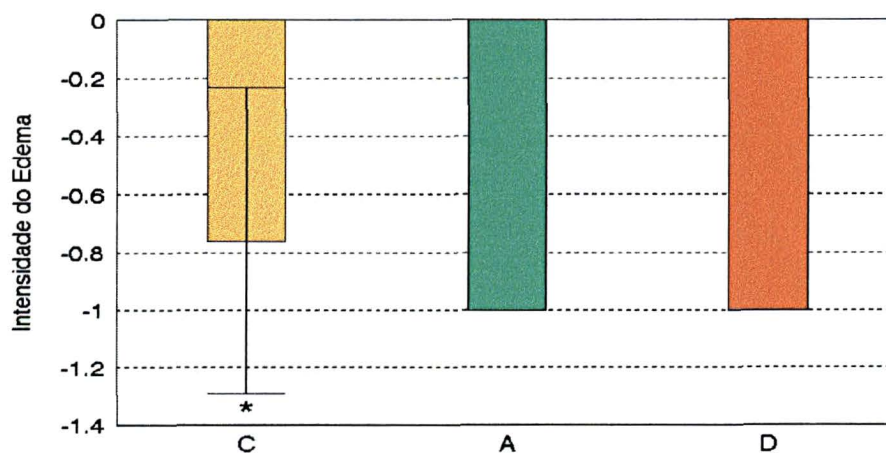
O infiltrado neutrofilico apresentou índice médio de 1,28 no grupo controle (C), de 1,36 no grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) e de 1,75 no grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D). O infiltrado neutrofilico (GRÁFICO 3) foi significativamente mais intenso ($p=0,0005$) no grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D) em relação ao grupo controle (C) e ao grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A).

GRÁFICO 3: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DO INFILTRADO NEUTROFÍLICO NO GRUPO CONTROLE (C), NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D).



NOTA: * o infiltrado neutrofílico foi significativamente maior ($p=0,0005$) no grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D) em relação ao grupo controle (C) e ao grupo que recebeu droga antes do procedimento cirúrgico (A).

GRÁFICO 4: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DO ÍNDICE DE EDEMA NO GRUPO CONTROLE (C), NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D).



NOTA: * a incidência de edema foi significativamente maior ($p=0,004$) nos grupos que receberam cisplatina (A e D) em relação ao grupo controle (C).

A média dos índices de edema foi de 0,76 no grupo controle (C), de 1 no grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) e de 1 no grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D). A incidência de edema (GRÁFICO 4) foi significativamente maior ($p=0,004$) nos grupos que receberam cisplatina (A e D) em relação ao grupo controle (C).

A congestão teve índice médio de 1 para todos os grupos. A média dos índices do infiltrado monomorfonuclear foi de 2 no grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A), de 2,04 no grupo controle (C), e de 2,2 no grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D). Não houve diferença significativa entre os diferentes grupos em relação ao infiltrado monomorfonuclear. O tecido de granulação apresentou índice médio de 2,14 no grupo controle (C), de 2,25 no grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D) e 2,40 no grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A). A intensidade da fibrose apresentou índice médio de 1,95 para o grupo que recebeu cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A), de 2,05 para o grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D) e 2,14 para o grupo controle (C). Não houve diferença significativa entre os grupos que receberam cisplatina e o grupo controle para estes dois últimos achados histológicos.

Os resultados de histologia, na segunda análise, foram divididos em seis subgrupos, de acordo com o momento do recebimento da cisplatina ou salina e de acordo com o dia da morte (C5, C8, A5, A8, D5 e D8) e estão apresentados na TABELA 14.

TABELA 14: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).

GRUPO (n)	NEUTRO. $\mu \pm DP$	EDEMA $\mu \pm DP$	CONG. $\mu \pm DP$	MONO. $\mu \pm DP$	TEC. GRAN. $\mu \pm DP$	FIBROSE $\mu \pm DP$	SOMA $\mu \pm DP$
C5 (11)	$-1,27 \pm 0,46$	$-0,63 \pm 0,50$	-1 ± 0	2 ± 0	$1,81 \pm 0,98$	$1,81 \pm 0,87$	$2,72 \pm 1,61$
C8 (10)	$-1,3 \pm 0,48$	$-0,9 \pm 0,56$	$-1 \pm 0,47$	$2,1 \pm 0,56$	$2,5 \pm 0,85$	$2,5 \pm 0,85$	$3,9 \pm 1,52$
A5 (11)	$-1,72 \pm 0,64$	-1 ± 0	-1 ± 0	2 ± 0	$1,9 \pm 0,53$	$1,54 \pm 0,68$	$1,72 \pm 1,42$
A8 (11)	-1 ± 0	-1 ± 0	-1 ± 0	2 ± 0	$2,9 \pm 0,3$	$2,36 \pm 0,5$	$4,27 \pm 0,64$
D5 (10)	$-1,8 \pm 0,42$	-1 ± 0	-1 ± 0	$2,4 \pm 0,51$	$1,8 \pm 0,78$	$1,6 \pm 0,51$	$2 \pm 0,81$
D8 (10)	$-1,7 \pm 0,48$	-1 ± 0	-1 ± 0	2 ± 0	$2,7 \pm 0,48$	$2,5 \pm 0,52$	$3,5 \pm 1,26$

NOTA: Neutro. – infiltrado neutrofilico, Cong. – congestão, Mono. – infiltrado monomorfonuclear, Tec. Gran. – tecido de granulação, n – n.º de animais, μ - média, DP – desvio padrão.

A somatória final das médias de todos os achados histológicos permitiu classificar os grupos em portadores de processo inflamatório agudo, subagudo ou crônico, conforme a TABELA 2. Ao se analisar (TABELA 15) os achados histológicos de acordo com a divisão em três subgrupos (C, A e D), observou-se que os grupos que receberam cisplatina antes de ato cirúrgico (A) e depois do ato cirúrgico (D) apresentaram médias finais de 3 e 2,75, respectivamente, tendo sido classificados como subagudos. O grupo controle (C) apresentou média de 3,28 e foi classificado como crônico.

TABELA 15: CLASSIFICAÇÃO DOS GRUPOS DE ACORDO COM A MÉDIA DA SOMATÓRIA FINAL DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS NO GRUPO CONTROLE (C), NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A) E NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D).

Grupos	Tipo de Processo Inflamatório	Média final do índice de intensidade do PI ($\mu \pm DP$)
C	Crônico	$3,28 \pm 1,64$
A	Subagudo	$3 \pm 1,69$
D	Subagudo	$2,75 \pm 1,29$

NOTA: PI – processo inflamatório, DP – desvio padrão

Na análise das médias finais dos achados histológicos os resultado ficaram assim distribuídos: os grupos C5, A5 e D5 apresentaram processo inflamatório subagudo, pois suas médias finais foram 2,72, 1,72 e 2 respectivamente, como apresentado na TABELA 16. Os grupos C8, A8 e D8 foram classificados como

portadores de processo inflamatório crônico pois suas médias finais foram de 3,9, 4,27 e 3,5 respectivamente.

TABELA 16: CLASSIFICAÇÃO DOS GRUPOS DE ACORDO COM A MÉDIA DA SOMATÓRIA FINAL DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS NOS GRUPOS CONTROLES (C5 E C8), NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO ATO CIRÚRGICO (A5 E A8) E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D5 E D8).

Grupos	Tipo de Processo Inflamatório	Média final do índice de intensidade do PI ($\mu \pm DP$)
C5	Subagudo	$2,72 \pm 1,61$
A5	Subagudo	$1,72 \pm 1,42$
D5	Subagudo	$2 \pm 0,81$
C8	Crônico	$3,9 \pm 1,52$
A8	Crônico	$4,27 \pm 0,64$
D8	Crônico	$3,5 \pm 0,26$

NOTA: PI – processo inflamatório, DP – desvio padrão

6 – DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A força de ruptura por tração tem sido utilizada já há muito tempo como método de avaliação da resistência dos tecidos em processo de cicatrização, como se pode observar nos trabalhos de FARHAT *et al* em 1958 e STALEY *et al* em 1961. Porém só mais recentemente este método foi proposto como parâmetro de avaliação de resistência das anastomoses intestinais como nos trabalhos de HILLAN *et al* em 1988 e GRAF *et al* em 1992. Este método tem sido também utilizado em inúmeros trabalhos brasileiros como os de NARESSE *et al* (1987, 1988 e 1993), VERDESSE *et al* (1993) e LEITE *et al* (1993).

Por décadas a pressão de ruptura, descrito pela primeira vez por CHLUMSKY no início do século, foi o método de escolha para a avaliação da resistência das anastomoses. Os pesquisadores que utilizam este método advogam que ele é o que imita mais fidedignamente a situação clínica, isto é, este é o método que melhor representa o mecanismo fisiopatológico da deiscência da anastomose intestinal.

Em 1999, IKEUCHI *et al*, utilizando uma máquina de ensaio mecânico computadorizada para aferição de tensão, compararam a pressão de ruptura e a força de tração, e concluíram que há forte correlação entre estes dois métodos na avaliação da resistência das anastomoses. Esta correlação ocorreu após o quarto dia de pós-operatório, isto é, passada a fase inicial da cicatrização. A explicação apresentada para esta ausência de correlação entre a força de ruptura e a pressão de ruptura na fase inicial de cicatrização foi a possível falta de homogeneidade na resistência da parede intestinal, incluindo a área da anastomose, à pressão intra-luminal. Esta falta de homogeneidade por sua vez teria como causa provável, em primeiro lugar, a deficiência técnica durante a anastomose. Esta deficiência seria decorrente, por exemplo, da não manutenção da tração do fio de sutura, permitindo com isso áreas de menor coaptação das bordas anastomóticas e conseqüentemente áreas de menor resistência à pressão.

Outra possibilidade seria o surgimento de áreas de necrose tecidual focal na anastomose, também levando ao surgimento de áreas de menor resistência à pressão. Assim, pequena área de menor resistência à pressão na linha de anastomose produziria diminuição da pressão de ruptura, porém não seria capaz de produzir diminuição da força de ruptura, pois a maior parte da anastomose permaneceria com boa coaptação e resistência intacta à tração.

Este grupo de autores utilizou a variável denominada resistência tênsil mínima (RTMI), que foi considerada a primeira queda transitória na curva de força de tração (significando o início da ruptura da anastomose) e propuseram que ela seria o melhor meio para avaliar a cicatrização das anastomoses colônicas, sendo importante determinante da resistência destas anastomoses. A partir destes resultados os autores defenderam que a força de tração seria o melhor método para se avaliar o poder de contensão de uma anastomose. Tal contensão seria, em última análise, o fator mais eficaz na prevenção de deiscência. Além disso, propuseram que a RTMI seria a melhor variável para se avaliar a resistência destas anastomoses.

Da mesma forma que no estudo de IKEUCHI *et al* (1999) ocorreram, no presente trabalho, rupturas fora da linha anastomótica durante o teste da tração. Embora a ruptura tenha ocorrido na linha de sutura da anastomose na maioria dos animais, em alguns espécimes cirúrgicos tal ruptura ocorreu fora desta linha; como em um animal do grupo D5, um do grupo D8, um do grupo A5, um do grupo C8 e cinco do grupo C5. Todos os animais do grupo A8 tiveram suas anastomoses rompidas na linha de sutura. Como o grupo C5 foi o que mais teve animais cuja ruptura ocorreu fora da linha de anastomose, optamos por complementá-lo, e mais 5 animais foram operados e testados utilizando a mesma metodologia. Estes novos animais apresentaram ruptura da anastomose na linha de sutura.

Os parâmetros clínicos, também largamente utilizados na avaliação da resistência das anastomoses intestinais, possuem menor acurácia em relação aos métodos mecânicos computadorizados de força de tração utilizados na aferição da resistência das anastomoses, como mostram os dados da literatura.

Os resultados de literatura quanto aos parâmetros clínicos de avaliação da cicatrização são bastante contraditórios, como é o caso da deiscência de anastomose. Enquanto alguns autores como FUMAGALLI *et al* (1989) avaliando a mitomicina e GRAF *et al* (1992) e KANELLOS *et al* (1996) avaliando o 5-fluorouracil, encontraram aumento significativo na incidência de deiscência das anastomoses intestinais, outros autores como KUZU *et al* (1998) não encontraram maior incidência desta complicação com o uso do 5-fluorouracil. O mesmo se observa com relação aos outros parâmetros, como infecção de ferida cirúrgica, índice de aderência e estenose de anastomose, que no experimento de KUZU *et al* (1998) não sofreram interferência da droga antineoplásica.

Esta heterogeneidade dos dados clínicos na avaliação do efeito de drogas quimioterápicas na cicatrização das anastomoses intestinais se deve provavelmente ao fato de que tais parâmetros sofram interferência de múltiplos outros fatores. A infecção de ferida cirúrgica, por exemplo, depende não apenas da integridade da capacidade cicatricial do organismo, mas principalmente dos cuidados de assepsia e anti-sepsia. Da mesma forma o índice de aderências intra-abdominais não está relacionado apenas com o processo cicatricial, mas também com a intensidade de contaminação da cavidade abdominal e com a presença de deiscência da anastomose. Também a estenose da anastomose depende muito mais da técnica cirúrgica utilizada do que do processo de cicatrização.

O parâmetro histológico, embora sujeito à subjetividade de quem o observa, também é importante fator de avaliação do processo de cicatrização das anastomoses. Este método propicia a avaliação *in loco* do processo de cicatrização e permite avaliar as alterações que diferentes substâncias produzem a nível tecidual. Alterações quantitativas e qualitativas na celularidade de um tecido em cicatrização são avaliadas com relativa acurácia pela avaliação histológica. Também a quantidade de fibras colágenas, principal elemento nos tecidos em cicatrização, podem ser avaliados com boa acurácia por este método.

Para melhor observarmos os efeitos da cisplatina no processo de cicatrização, abordaremos separadamente os três parâmetros avaliados neste estudo: parâmetros clínicos, mecânicos e histológicos.

6.1 PARÂMETROS CLÍNICOS

6.1.1 Peso

A perda de peso que ocorre no período peri-operatório pode refletir desnutrição, o que poderia levar a deficiência na cicatrização e, portanto, em chance maior de complicações anastomóticas. Neste caso a perda de peso seria o fator causal do maior índice de complicações anastomóticas.

LAW e ELLIS (1990) ao avaliar o efeito da nutrição parenteral sobre a cicatrização de anastomoses colônicas utilizaram-se de modelo de desnutrição protéica. Encontraram diminuição significativa da pressão de ruptura da anastomose nos animais com desnutrição protéica. Desta maneira os autores sugeriram que a nutrição seria fator determinante na cicatrização das anastomoses colônicas e que se houver desnutrição possivelmente a cicatrização destas anastomoses será afetada. Estudos como os de ZUIDEWIJN *et al* (1986 e 1991) também sugeriram que as drogas antineoplásicas, ao interferir com o ganho de peso e o estado nutricional, podem levar a maior índice de complicações anastomóticas

GRAF *et al* (1994), no entanto, ao compararem diversos grupos de ratos submetidos a anastomose colônicas sob efeito de 5-fluorouracil associado ou não a desnutrição encontraram resultados que sugerem que o fator nutricional não é o mais importante na deficiência da cicatrização destas anastomoses.

Outros autores como KUZU *et al* (1998) e IRVIN *et al* (1974) também acreditam que, embora o uso de quimioterápicos induza perda de peso e conseqüente estado nutricional carencial, isto não é o fator determinante na cicatrização das anastomoses intestinais. Nos casos em que há desnutrição e uso de drogas quimioterápicas, estas seriam o fator preponderante no déficit da

cicatrização das anastomoses. Com base no exposto, uma das preocupações deste estudo foi afastar a possibilidade da interferência da desnutrição na cicatrização das anastomoses colônicas. Para isto utilizou-se do peso como indicador do estado nutricional dos animais.

Inicialmente, o peso dos animais que receberam cisplatina antes do procedimento cirúrgico (A) foi significativamente menor ($p=0,0295$) que os controles (C) e os que receberam a cisplatina depois do ato cirúrgico (D). Como a distribuição dos animais foi aleatória na composição dos grupos no início do trabalho, a explicação deste achado se dá pela teoria do Paradoxo Central da Amostragem. Segundo esta teoria, apesar da existência de aleatoriedade na distribuição dos grupos de indivíduos, existe sempre a possibilidade, mesmo que muito pequena, de haver grupos com características inicialmente diferentes. Na evolução, observou-se que houve confluência das médias de peso, até que no dia da morte tais médias não apresentassem mais diferenças significativas. Nota-se, ao se analisar as diferenças de peso entre o dia da cirurgia e o dia da morte, que, embora tenha havido perda de peso em todos os grupos, no grupo A esta perda foi significativamente menor que nos demais. Podemos inferir com este achado que, se houve desnutrição, indicada pela perda de peso, ela existiu em todos os grupos e não poderia ter sido a causa de eventual prejuízo na cicatrização das anastomoses colônicas. E mesmo tendo tal perda sido significativamente menor no grupo A, o que poderia indicar menor grau de desnutrição, este foi o grupo que apresentou queda da FMT. Este achado sugere que o fator nutricional não foi o preponderante no prejuízo da cicatrização das anastomoses colônicas.

6.1.2 Infecção de ferida cirúrgica

A infecção de ferida cirúrgica é a complicação pós-operatória mais comum e possui etiologia multifatorial, dependendo, entre outros fatores, do tipo de cirurgia, da duração da mesma e do estado imunológico do organismo que está sendo submetido ao ato operatório. Assim a sua importância como

fator de avaliação da influência da quimioterapia na cicatrização dos tecidos é limitada. Embora seu valor seja limitado, esta variável pode ser utilizada como parâmetro de interferência de tais drogas na cicatrização tecidual. GRAF *et al* (1992) e KUZU *et al* (1998) avaliaram a infecção de ferida cirúrgica em seus estudos e não encontraram incidência significativamente maior de infecção nos grupos que receberam drogas antineoplásicas.

No presente trabalho a incidência de infecção foi baixa, não apresentando diferença estatisticamente significativa entre os grupos, o que está de acordo com os estudos de GRAF *et al* (1992) e KUZU *et al* (1998).

6.1.3 Evolução pós-operatória

O número de óbitos como consequência da presença de deiscências das anastomoses colônicas também é uma medida indireta da deficiência da cicatrização destas anastomoses. No presente trabalho a incidência de óbitos foi homogênea não tendo apresentado diferença significativa entre os grupos, o que está de acordo com os achados de KUZU *et al* (1998).

6.1.4 Aderências intra-abdominais

A intensidade das aderências é medida indireta da presença de complicações anastomóticas, como definiu KUZU *et al* em 1998, e, por consequência, também uma medida indireta da cicatrização das anastomoses. Quando ocorre deiscência há vazamento de conteúdo intestinal dentro da cavidade peritoneal. Para a contenção de tal vazamento o organismo responde com bloqueio do local através da migração de estruturas intra-abdominais e formação de aderências.

Os dados obtidos pela quantificação de aderências pelo índice de Knighly mostraram que, apesar dos maiores valores das médias deste índice terem ocorrido nos grupos que receberam droga, as diferenças não foram significativas.

6.1.5 Presença de complicações na anastomose (deiscência ou estenose)

A deiscência da anastomose tem sido usada por vários autores como critério de avaliação da interferência de drogas quimioterápicas na cicatrização de anastomoses intestinais e os resultados obtidos são conflitantes. KUZU *et al* (1998) não encontraram maior incidência de deiscência de anastomose com o uso do 5-fluorouracil. Outros autores como FUMAGALLI *et al* (1989), GRAF *et al* (1992) e KANELLOS *et al* (1996), no entanto, avaliando a mitomicina, no primeiro estudo, e o 5-fluorouracil, nos outros dois, encontraram aumento significativo na incidência de deiscência das anastomoses intestinais.

Nesta casuística a incidência de deiscência da anastomose colônica, embora tenha ocorrido em quatro casos do grupo A5 (grupo que recebeu cisplatina antes do ato cirúrgico e foi morto no quinto dia), não apresentou diferença significativa entre os grupos.

A estenose é outra complicação anastomótica que reflete alterações na cicatrização, porém a relação de causa-efeito que as drogas antineoplásicas exercem no processo cicatricial e a presença de estenose é menos direta do que na deiscência. Mesmo assim alguns autores como KUZU *et al* (1998) avaliaram a incidência de estenose. Não encontraram diferença significativa na incidência de estenose entre os grupos.

Neste trabalho, embora a estenose da anastomose tenha ocorrido com maior frequência no grupo controle, sua incidência não apresentou diferença significativa, o que está de acordo com os dados de literatura.

6.2 PARÂMETROS MECÂNICOS

Os parâmetros mecânicos apresentam, conforme a literatura, resultados mais acurados como método de aferição da cicatrização das anastomoses. Trabalhos como os de ZUIDEWIJN *et al* em 1986 e em 1991, FUMAGALLI *et al* em 1989, de WAARD *et al* em 1995 e KANELLOS *et al* em 1996, por meio da utilização do método de pressão de ruptura, e os experimentos de

GOLDMAN *et al* em 1969 e GRAF *et al* em 1992, por meio da utilização do método da força de tração, mostraram a interferência das drogas quimioterápicas sobre o processo de cicatrização destas anastomoses.

De toda a literatura pesquisada apenas quatro trabalhos, ASZODI *et al* (1985), HILLAN *et al* (1988), HANANEL *et al* (1995) e KUZU *et al* (1998), não encontraram interferência das drogas quimioterápicas estudadas na anastomose intestinal. Todos, com exceção de HILLAN que utilizou o método da força de ruptura, avaliaram a resistência por meio da utilização do parâmetro de pressão de ruptura. Os três primeiros possuíram metodologias muito diferentes. ASZODI *et al* (1985), por exemplo, injetaram o quimioterápico no interior da parede da alça intestinal. No trabalho de HILLAN *et al* (1988) os animais foram mortos no 14º dia após o procedimento cirúrgico sendo a droga administrada em três períodos diferentes do pós-operatório. Em todos os grupos houve tempo suficiente sem interferência do 5-fluorouracil para maturação do processo cicatricial. Processo semelhante ocorreu no experimento de HANANEL *et al* (1995), em que o 5-fluorouracil foi administrado em dose semanal sendo a morte dos animais uma semana após o término da administração da droga, de forma que esta teve pouco efeito prejudicial do processo cicatricial. O único experimento metodologicamente semelhante e, portanto, comparável com o presente estudo a não ter mostrado interferência da droga quimioterápica na cicatrização das anastomoses intestinais foi o de KUZU *et al* (1998). Neste trabalho, utilizando a metodologia da pressão de ruptura, os autores não encontraram efeito do 5-fluorouracil administrado no pré-operatório de anastomoses colônicas sobre o processo de cicatrização.

6.2.1 Força tênsil de ruptura da anastomose colônica

A força de tração, como já exposto anteriormente, tem sido utilizada cada vez mais freqüentemente como parâmetro de aferição de resistência das anastomoses. A maioria dos trabalhos de literatura, no entanto, utiliza métodos

puramente mecânicos, como é o caso de FARHAT *et al* em 1958, STALEY *et al* em 1961 e HILLAN *et al* em 1988, ou eletromecânicos, como nos trabalhos de NARESSE *et al* (1987,1988 e 1993), VERDESSE *et al* (1993), para a obtenção da força de tração. Estas metodologias dificultam a obtenção com precisão da força de tração em que inicia o processo de ruptura das anastomoses. O processo de cicatrização das anastomoses constitui-se da proliferação de células fibroblásticas e da deposição de fibras colágenas no local da ferida cirúrgica. A quantidade destas fibras na área da anastomose é que determinará a resistência da anastomose. Quando se submete o espécime cirúrgico à tração haverá ruptura de tais fibras colágenas em formação na área da anastomose, e quanto maior a quantidade de fibras presentes, maior será força necessária para a ruptura. Assim a aferição precisa da força de tração em que se inicia o processo de ruptura do segmento de alça intestinal é de fundamental importância para a avaliação da resistência das anastomoses.

O método mecânico-eletrônico foi utilizado por IKEUCHI *et al* em 1999. Estes autores compararam a correlação entre a força tênsil de ruptura e a pressão de ruptura. A primeira foi avaliada por meio de um tensiômetro (TB 611-T, Nihon Koden, Tokyo) e a segunda por meio da utilização de uma bomba de infusão (SP-60, Nipro, Tokyo). A partir deste estudo, como já exposto, os autores propuseram que a força de tração seria a melhor metodologia e a resistência tênsil mínima (RTMI) variável ideal para se avaliar a resistência da anastomose colônica em processo de cicatrização.

A precisão dos dados de força tênsil, obtida por meio da utilização de uma máquina de ensaio mecânico computadorizado para aferição da força de tração pelo aparelho Instron (modelo 4467), é um fator a ser destacado neste trabalho, pois este aparelho oferece índices precisos, produzindo resultados bastante confiáveis.

6.2.1.1 Força máxima de tração (FMT)

A FMT, como definido anteriormente, foi a força máxima atingida durante a tração em que começasse haver ruptura do espécime na linha de anastomose. Esta variável é correspondente à RTMI (resistência tênsil mínima) avaliada no trabalho de IKEUCHI *et al* (1999), pois pôde-se observar que a primeira queda na tensão durante a tração, mostrando o início da ruptura, foi equivalente à força máxima atingida durante a tração.

No presente trabalho observa-se, ao se dividir os animais em dois grupos, um que recebeu cisplatina e outro controle, que a FMT foi significativamente menor no primeiro grupo ($p=0,290$). Isto sugere que a cisplatina produza interferência na resistência da anastomose à tração independentemente do momento de sua utilização.

Quando se avalia a FMT com os animais divididos em três grupos, controle, animais que receberam a cisplatina antes da realização da anastomose (A) e animais que receberam cisplatina depois do ato cirúrgico (D), observa-se que estes dois últimos grupos apresentaram níveis desta variável significativamente menores que no grupo controle com $p=0,0124$. Este resultado reforça a idéia anterior, indicando que a possível interferência da cisplatina na resistência das anastomoses à tração se dá quando esta droga é administrada tanto antes quanto após a realização de tal anastomose.

Ao se dividir os animais de acordo com administração de salina ou cisplatina (antes ou depois) e de acordo com o dia da morte pode-se observar o seguinte: a FMT dos grupos que receberam cisplatina antes e depois do ato operatório, mortos no quinto dia de pós-operatório (A5 e D5), foram significativamente menores ($p=0,0001$) quando comparadas à FMT do grupo controle mortos no quinto dia (C5). Nos animais mortos no oitavo dia a FMT não apresentou diferença significativa entre os grupos que receberam cisplatina (A8 e D8) em relação ao controle (C8). Tal resultado indica que o eventual prejuízo causado pela cisplatina na resistência da anastomose colônica seja recuperado até o oitavo dia de pós-operatório.

6.2.1.2 Força de ruptura completa (FRC)

Procedendo-se da mesma maneira na análise da FRC pode-se observar que esta variável foi significativamente menor ($p=0,0013$) no grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D) em relação ao grupo controle (C) e ao grupo que recebeu cisplatina antes do ato cirúrgico (A). A FRC como parâmetro de avaliação da resistência da anastomose tem um papel secundário, pois sua sensibilidade em perceber pequenas diferenças de resistência à tração, como é o caso dos tecidos vivos, é pequena. Esta variável é importante na avaliação de tecidos ou materiais de alta resistência. De qualquer modo a análise deste resultado indica interferência da cisplatina na resistência da anastomose quando administrada após o ato cirúrgico.

6.3 PARÂMETROS HISTOLÓGICOS

O método histológico é utilizado com grande frequência como meio de avaliação da evolução da cicatrização das anastomoses. Embora tenha seu valor questionável pela subjetividade na sua obtenção, em mãos experientes e sendo submetido à padronização dos achados em índices de intensidade o método histológico pode ser de grande valor na avaliação do processo cicatricial.

Da mesma forma como proposto por SOUSA, em 1994, e OLIVEIRA, em 1995, neste estudo foi utilizado o parâmetro histológico com atribuição de índices de intensidade aos achados histológicos .

O infiltrado neutrofilico é o principal achado histológico na fase aguda do processo cicatricial e é o que caracteriza o processo como agudo. A quantidade de neutrófilos no leito da ferida tem íntima relação com o processo de proliferação, ativação e movimentação celular, bem como com a produção de citocinas, que são as proteínas mediadoras do processo inflamatório. Os outros achados do processo inflamatório agudo, como edema intersticial e congestão vascular, tem ligação menos estreita com o processo de proliferação celular.

IKEUCHI *et al*, em 1999, propuseram que a fase inicial do processo cicatricial terminaria por volta do quarto dia de pós-operatório e, desta forma, a partir do quinto dia de pós-operatório seria esperado que o infiltrado polimorfonuclear (neutrofílico) fosse menos intenso, dando lugar ao infiltrado monomorfonuclear e aos fibroblastos.

FUMAGALLI *et al* (1991) e KANELLOS *et al* (1996), avaliando mitomicina no primeiro e 5-fluorouracil no segundo, encontraram persistência dos achados histológicos de processo inflamatório agudo nos animais que receberam a droga quimioterápica. Propuseram que haveria retardo no processo de reparação das anastomoses colônicas com persistência da “fase proliferativa”.

Observa-se, no presente estudo, que o grupo que recebeu cisplatina depois do procedimento cirúrgico (D) apresentou índice de infiltrado neutrofílico significativamente maior ($p=0,0005$) que o grupo controle (C) e que o grupo que recebeu esta droga antes do ato operatório (A). Este fato sugere que a cisplatina, quando presente durante o transcorrer do processo inflamatório, interfira produzindo retardo na fase aguda deste processo, o que é congruente com os relatos de FUMAGALLI *et al* (1991) e KANELLOS *et al* (1996). Outro fator que corrobora com a idéia de que a cisplatina produza este retardo na fase aguda do processo inflamatório é que a classificação, de acordo com o somatório final dos achados histológicos, mostrou que o grupo controle apresentou infiltrado crônico enquanto os grupos que receberam cisplatina (A e D) foram classificados como tendo infiltrado inflamatório subagudo.

O edema intersticial foi mais intenso nos grupos que receberam cisplatina antes (A) e depois (D) do procedimento cirúrgico em relação ao grupo controle (C). Como o edema intersticial é um achado histológico característico da fase aguda da inflamação, este dado reforça a idéia de que a cisplatina interfira no processo inflamatório produzindo uma lentificação do mesmo.

O fato da cisplatina não ter apresentado efeito sobre a intensidade do infiltrado monomorfonuclear, da fibrose e do tecido de granulação (achados

típicos do processo inflamatório crônico) reforça a idéia de que tal droga interfira no funcionamento celular produzindo retardo no processo evolutivo da inflamação na fase aguda.

6.4 EFEITO DA CISPLATINA NA CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS

Embora a avaliação dos dados clínicos deste estudo não tenha mostrado interferência da cisplatina na cicatrização das anastomoses colônicas, estes parâmetros possuem, como já discutido, pouca acurácia.

A força de ruptura é um método altamente eficaz para avaliação da resistência das anastomoses intestinais e importante determinante do processo de cicatrização das mesmas, como mostrou IKEUCHI *et al* em 1999. No presente estudo a força de ruptura apresentou queda significativa ($p=0,0001$) nos grupos que receberam cisplatina antes e depois do procedimento cirúrgico e foram mortos no quinto dia (A5 e D5) em relação ao controle (C5).

Do ponto de vista histológico a cisplatina retardou a fase aguda do processo de reparação da anastomose colônica, porém não interferiu com a intensidade dos achados de fibrose, tecido de granulação e infiltrado monomorfonuclear nem no quinto, nem no oitavo dia de pós-operatório.

Assim, como a resistência à força de tração foi significativamente menor nos grupos A5 e D5, em relação ao C5, e como a quantidade do tecido produtor de fibras colágenas não foi diferente entre os grupos que receberam e os que não receberam cisplatina, sugere-se que esta droga atue interferindo a nível de fibroblastos, diminuindo a produção de tais fibras ou diminuindo a eficiência delas no sítio da anastomose em cicatrização. Neste sentido HENDRIKS *et al.* (1993) e de WAARD *et al* (1995 e 1998) propuseram que drogas quimioterápicas apresentam efeito inibidor sobre a produção de mediadores celulares da resposta inflamatória e sobre a função de fibroblastos ativos e induzam diminuição da síntese e maturação do colágeno.

7 - CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Com relação à utilização da cisplatina administrada intraperitonealmente no pré e pós-operatório sobre a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos Wistar adultos, podemos concluir que:

1. A cisplatina não se associou com interferência na cicatrização das anastomoses colônicas pela avaliação dos parâmetros clínicos.
2. A cisplatina associou-se com diminuição significativa na Força Máxima de Tração (FMT) nos ratos dos grupos que a receberam antes e depois do procedimento cirúrgico e foram mortos no quinto dia de pós-operatório (A5 e D5) em relação ao grupo controle morto no quinto dia (C5). Esta diminuição não foi observada nos animais mortos no oitavo dia de pós-operatório, o que pode sugerir recuperação da resistência da anastomose.
3. Do ponto de vista histológico, a cisplatina associou-se a índice significativamente maior de infiltrado neutrofílico no leito da anastomose quando administrada depois do procedimento cirúrgico (D), em relação ao grupo controle (C) e em relação ao grupo que recebeu esta droga antes do ato cirúrgico (A). Também se associou a índice significativamente maior de edema intersticial nos grupos que receberam tal droga (A e D) em relação ao grupo controle (C).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ASZODI, A.; PONSKI, J. L. Effects of 5-fluorouracil on the healing of bowel anastomosis in rats. **Am. Surg.**, Marion, v.51, p.671-674, 1985.
- 2 BANDA, M. J.; KNIGHTON, D. R.; HUNT, T. K.; WEBER, Z. Isolation of a nonmitogenic angiogenesis factor from wound fluid. **Proc. Nath. Acad. Sci. USA**, Washington, v.79, p.7773-7777, 1982.
- 3 BEREK, J. S. Interval debulking of ovarian cancer—an interim measure. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.332, p.675-677, 1995.
- 4 BEREK, J. S.; BAST, R. C.; LICHTENSTEIN, A.; HACKER, N. F.; SPINA, C. A.; LAGASSE, L. D.; KNAPP, R. C.; ZIGHELBOIM, J. Lymphocyte cytotoxicity in the peritoneal cavity and blood of patients with ovarian cancer. **Obstet. Gynecol.**, New York, v.64, p.708, 1984.
- 5 BLOMQUIST, P.; AHONEN, H.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. The effect of relative bowel rest on healing of colonic anastomoses: collagen synthesis and content in the colonic wall after left colon resection and anastomosis in the rat. **Acta Chir. Scand.**, Oslo, v.150, p.677-681, 1984.
- 6 BLOMQUIST, P.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. The effect of relative bowel rest on healing of colonic anastomoses: Breaking strength and the collagen in the colonic wall following left colon resection and anastomosis in the rat. **Acta Chir. Scand.**, Oslo, v.150, p.671-675, 1984.
- 7 BLURR, H. S.; HARVEY, S. C.; TAFFEL, M. Bio-eletric correlates of wound healings. **Yale J. Biol. Med.**, Yale, v.11, p.103-107, 1938.
- 8 BURG, M. E. L. van der; LENT, M. van; BUYSE, M.; KOBIERSKA, A.; COLOMBO, N.; FAVALLI, J.; LACAVE, A.J.; NARDI, M.; RENARD, J.; PECORELLI, S. The effect of debulking surgery after induction chemotherapy on the prognosis in advanced epithelial ovarian cancer. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.332, n.10, p.629-634, 1995.
- 9 CAMPOS, H. **Estatística experimental não paramétrica**. 4. ed. Piracicaba: Gráfica da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, 1983.

- 10 CARREL, A. The treatment of wounds. **JAMA**, Chicago, v.55, p.2148-2150, 1910.
- 11 CARRIL, C. S. **Anastomoses intestinais: métodos invaginantes e métodos por aposição em mesmo alinhamento**: estudo experimental comparativo com apresentação de um processo original. Ribeirão Preto, 1970, 75 f. Tese (Docência-Livre) Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 12 CHABNER, B. A.; ALLEGRA, C.J.; CURT, G. A.; CALABRESI, P. Agentes antineoplásicos. In: GILMAN, A. G.; RALL, T. W.; NIES, A. S.; TAYLOR, P. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.912-937.
- 13 CHLUMSKY, V. Experimentalle Untersuchungen über die Verschiedenen Method der Darmvereinigung. **Burns. Beitr. Klin. Chir.**, Berlin, v.25, p.539-560, 1989. Apud Hendriks and Matsboon, 1990.
- 14 COHEN, S. C.; GABELNICK, H. L.; JOHNSON, R. K.; GOLDIN, A. Effects of cyclophosphamide an adriamycin on the healing of surgical wounds in mice. **Cancer**, Houston, v.36, p.1277, 1975.
- 15 CRAMER, D.W. Epidemiologic and statistical aspects of gynecologic oncology. In: KNAPP, R. C.; BERKOWITZ, R. S. **Gynecol. Oncol.** London: Macmillian, p.201–222,1986.
- 16 CRAMER, D. W. Epidemiology and biostatistics. In: BEREK, J. S.; HACKER, N. F. **Pract. Gynecol. Oncol.**. Baltimore: Williams & Wilkins, p.167–192, 1989.
- 17 FAHART, S. M., Effect of mechlorethamine hydrochloride (nitrogen mustard) on healing of abdominal wouds. **Arch. Surg.**, Chicago, v.76, p.749-753, May 1958.
- 18 FISHER, B.; GUNDUZ, N.; SAFFER, E. A. Influence of the interval between primary tumor removal and chemotherapy on kinetics and growth of metastases. **Cancer Resear.**, Philadelphia, v.43, p.1488-1492, 1983.
- 19 FUMAGALLI, U.; TRABUCHI E.; SOLIGO, M.; ROSATI, R.; REBUFFAT, C.; TONELLI, C.; MONTORSI, M. Effect of intraperitoneal chemotherapy on anastomotic healing in the rat. **J. Surg. Res.**, Orlando, v.50, p.82-87, 1991.

- 20 GRAF, W.; WEIBER, B.; GLIMELIUS, B.; JIBORN, H.; PAHLMAN, L.; ZEDERFELDT, B. Influence of 5-fluorouracil and folinic acid on colonic healing: an experimental study in the rat. **Br. J. Surg.**, London, v.79, p.825-828, 1992.
- 21 GRAF, W.; WEIBER, S.; JIBORN, H.; PAHLMAN, L.; GLIMELIUS, B.; ZEDERFELDT, B. The roles of nutritional depletion and drug concentration in 5-fluorouracil-induced inhibition of colonic healing. **J. Surg. Res.**, Orlando, v.56, p.452-456, 1994.
- 22 GOLDMAN, L. I.; LOWE, S.; AL-SALEEM T. Effect of fluorouracil on intestinal anastomoses in the rat. **Arch. Surg.**, Chicago, v.98, p.303, 1969.
- 23 HAMM, A.; KORT, W.; WEIJMA, I.; van den INHG, H.; JEECKEL, H. Effect of antibiotics in fibrin selant on healing colonic anastomoses in the rat. **Br. J. Surg.**, London, v.79, p.525-528, 1992.
- 24 HANANEL, N.; GORDON, P. H. Effect of 5-fluorouracil and leucovorin on the integrity of colonic anastomoses in the rat. **Dis. Col. Rec.**, Rochester, v.38, p.886-890, 1995.
- 25 HARRIS, D. T.; MASTRANGELO, M. J. Theory and application of early sistemic therapy. **Semin. Oncol.**, Philadelphia, v.18, p.493-503, 1991.
- 26 HAWTHORN, J.; OSTLER, K. J.; ANDREWS, P. L. The role of the abdominal visceral innervation and 5-hydroxytryptamine M-receptors in vomiting induced by the cytotoxic drugs cyclophosphamide and cisplatin in the ferret. **Q. J. Exp. Physiol.**, v.73, p.7, 1988.
- 27 HENDRIKS, T.; MARTENS, M. F. W. C.; HUYBEN, C. M. L. C.; WOBBS, T. Inhibition of basal and TGF β -induced fibroblast collagen synthesis by antineoplastic agent. Implication for wound healing. **Br. J. Cancer**, London, v.67, p.545-550, 1993.
- 28 HERMANN, J. B.; WOODWARD, S. C.; PULASKI, E. J. Healing of colonic anastomoses in the rat. **Surg Gynecol. Obstetr.**, Chicago, v.119, p.269-275, 1964.
- 29 HILLAN, K.; NORDLINGER, B.; BALLEET, F.; PUTS, J. P.; INFANTE, R. The healing of colonic anastomoses after early intraperitoneal chemotherapy: an experimental study in rats. **J. Surg. Res.**, Orlando, v.44, p.166-171, 1988.

- 30 HOSKINS, W. J.; BUNDY, B. N.; THIGPEN, J. T.; OMURA, G. A.
The influence of cytoreductive surgery on recurrence-free interval and survival in small-volume stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. **Gynecol. Oncol.**, London, v.47, n.2 p.159-166, 1992.
- 31 HOWES, E. L.; SOOY, J. W.; HARVEY, S. C. The healing of wounds determined by their tensile strenght. **JAMA**, Chicago, v.92, p.42-45, 1929.
- 32 IKEUCHI, D.; ONODERA, H.; AUNG, T.; KAN, S.; KAWAMOTO, K.; IAMAMURA, M.; MAETANI, S. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. **Dig. Surg.**, Basel, v.16, p.478-485, 1999.
- 33 IRVIN, T. T.; HUNT, T. K. Effect of malnutrition on colonic healing. **Ann. Surg.**, Hagertown, v.180, p.765-772, 1974.
- 34 JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. IV. Effect of suture technique on collagen metabolism in the colonic wall. **Am. J. Surg.**, Marion, v.139, p.398-405, 1980.
- 35 JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Breaking strenght of small intestine anastomoses. **Am. J. Surg.**, Marion, v.145, p.800-803, 1983.
- 36 KANELLOS, I.; KAVOUNI, A.; ZARABOUKAS, T.; ODISSEOS, C.; GALOVATSEA, K.; DADAOUKIS, I. Influence of intraperitoneal 5-fluorouracil plus folinic acid on the healing of colonic anastomosis in rats. **Eur. Sur. Res.**, London, v.28, p.374-379, 1996.
- 37 KNAPP, R. C.; FRIEDMAN, E. A. Aortic lymph node metastases in early ovarian cancer. **Am. J. Obst. Gynecol.**, St. Louis, v.119, p.1013, 1974.
- 38 KNIGHTLY, J. J.; AGOSTINO, D.; CLIFFTON, E. E. The effect of fibrinolysin and heparin on the formation of peritoneal adhesions. **Surgery**, St. Louis, v.52, p.250-258, 1962.
- 39 KUZU, M. A.; KOSKOY, C.; KALE, T.; DEMIPRENÇE, E.; RENDA, N. Experimental study of the effect of preoperative 5-fluorouracil on the integrity of colonic anastomoses. **Br. J. Surg.**, London, v.85, p.236-239, 1998.

- 40 LAW, N. W.; ELLIS, H. The effect of parenteral nutrition on the healing of abdominal wall wounds and colonic anastomoses in protein-malnourished rats. **Surgery**, St. Louis, v.107, n.4, p.449-454, 1990.
- 41 LEITE, C. V. S.; NARESSE, L. E.; KOBAYASHI, S.; MINOSSI, J.G.; BURINI, R. C.; CURI, P. R.; HOSSNE, W. S. Efeito da desnutrição protéica na anastomose do cólon distal no rato. Efeito da força de ruptura e do colágeno tecidual. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.4, p.145-150, 1993
- 42 MARTENS, M. F.; HENDRIKS, T.; WOBBS, T.; de PONT, J. J. Intraperitoenal cytostatics impair early pos-operative collagen synthesis in experimental intestinal anastomoses. **Br. J. Cancer**, London, v.65 p.649-654, 1992.
- 43 MARTINEZ, A.; SCHRAY, M. F.; HOWES, A. E, BAGSHAW, M. A. Postoperative radiation therapy for epithelial ovarian cancer: the curative role based on a 24-year experience. **J. Clin. Oncol.**, Orlando, 1985, v.3, n.7, p.901-911, 1985.
- 44 MARTINS Jr A.; GUIMARÃES, A. S.; FERREIRA, A. L. Efeitos dos corticosteróides na cicatrização de anastomoses intestinais. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.7, p.28-30, 1993.
- 45 NARESSE, L. E.; LEITE, C. V. S.; RODRIGUES, M. A. M.; ANGELELI, A. Y. O.; MINOSSI, J. G.; KOBAYASHI, S. Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato. Avaliação anátomo-patológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.8, p.48-53, 1993.
- 46 NARESSE, L. E.; LUCCHIARI, P. H.; ANGELELI, A. Y. O.; BURINI, R. C.; RODRIGUES, M. A. M.; CURI, P. R.; KOBAYASHI, S. Estudo comparativo da anastomose no intestino delgado de cão. Estudo da força de ruptura, hidroxiprolina tecidual e anátomo-patológico. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.3, p.106-112, 1988.
- 47 NARESSE, L. E.; MENDES, E. F.; CURI, P. R.; LUCCHIARI, P. H.; KOBAYASHI, S. Aparelho para medida de força de ruptura das anastomoses intestinais. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Méd. S. Paulo**, São Paulo, v.42, p.204-208, 1987.

- 48 NEIJT, J. P.; BOKKEL, T.; HUININK, W. W.; van der BURG, M. E.; van OOSTEROM, A. T.; VRISENDORP, R.; KOOYMAN, C. D.; van LINDERT, A. C.; HAMERLYNCH, J. V.; van LENT, M.; van HOUWELINGEM, J.C. Randomized trial comparing two combination chemotherapy regimens (Hexa-CAF vs CHAP-5) in advanced ovarian carcinoma.. **Lancet**, New York, v.2, p.594, 1984.
- 49 NELSEN, T. S.; ANDRES, C. J. Dynamic aspects of small intestine rupture intestine with special consideration of anastomotic strenght. **Arch. Surg.**, Chicago, v.22, p.227-239, 1974.
- 50 OLIVEIRA, P. G. **Efeito da peritonite por *Cândida albicans* na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos.** Ribeirão Preto, 1995, 119 f. Tese (Doutorado) Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 51 OMURA, G.; BLESSING, J. A.; EHRLICH, C. E.; MILER, A., YORDAN, E.; CREASMAN, W.T.; HOMESLEY, H. D. A randomized trial of cyclophosphamide and doxorubicin with or without cisplatin in advanced ovarian cancer. **Cancer**, Houston, v.57, p.1725, 1986.
- 52 ORGILL, D.; DEMLING, R. H. Current concepts and approaches to wound healing. **Crit. Care Med.**, Baltimore, v.16, p.889-907, 1988.
- 53 PARKER, S.L.; TONG T.; BOLDEN S.; WINGO P.A. Cancer statistics 1996. **CA**, New York, v.46 p.5–27, 1996.
- 54 PRESTAYKO, A.W. Cisplatin and analogues: a new class of anticancer drugs. In: CROOKE, S. T.; PRESTAYKO, A. W. (Ed.). **Cancer and Chemotherapy, vol III, Antineoplastic Agents**. New York: Academic, 1981. p. 133.
- 55 ROCHA, J. J. R. **Estudo comparativo entre sutura contínua e sutura com pontos separados em anastomoses colo-cólicas em plano único: trabalho experimental em cães.** Ribeirão Preto, 1989. 113 f. Tese (Doutorado). Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 56 ROSEMBERG, B.; van CAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. **Nature**, New York, v.205, p.698-699, 1965.

- 57 SOUSA, J. B.; SOARES, E. G.; APRILLI, F. Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing: experimental study on the small intestine of rabbits. **Dis. Col. Rec.**, Rochester, v.34, p.13-17, 1991.
- 58 SOUSA, J. B. **Evolução da cicatrização de anastomoses colônicas sob a ação do diclofenaco sódico administrado no período perioperatório: estudo experimental em coelhos.** Ribeirão Preto, 1994. 95 f. Tese (Doutorado) Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 59 STALEY, C. J.; TRIPPEL, O. H.; TRESTON, F. W. Influence of 5-fluorouracil on wound healing. **Surgery**, St. Louis, v.49, p.450, 1961.
- 60 VERDESSE, L. R. M. **Estudo biomecânico do intestino delgado e cólon de ratos na peritonite fecal, associada ao diclofenaco de sódio.** Botucatu, 1993. 114 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade Médica de Botucatu, Universidade de São Paulo.
- 61 VIEIRA, S.; HOFFMANN, R. **Estatística experimental.** 1. ed. São Paulo: Atlas, 1989.
- 62 WAARD, J. W. D. de; MAN, B. M.; WOBBS, T.; LINDEN, C. J. van der; HENDRIKS, T. Inhibition of fibroblast collagen synthesis and proliferation by Levamisole and 5-Fluorouracil. **Eur. J. Cancer**, London, v.34, p.162-167, 1998.
- 63 WAARD, J. W. D. de; MAN, B. M.; WOBBS, T.; LINDEN, C. J. van der; HENDRIKS, T. Postoperative levamisole may compromise early healing of experimental intestinal anastomoses. **Br. J. Cancer**, London, v.72, p.456-460, 1995.
- 64 YANCIK, R. Ovarian cancer: age contrasts in incidence, histology, disease stage at diagnosis and mortality. **Cancer**, Houston, v.71, suppl 2, n.51, p.523, 1993.
- 65 ZUIDEWIJN, D. B. W. de; WOBBS, T.; HENDRICKS, T.; KLOMPMAKERS, A. A.; BOER, H. H. M. The effect of antineoplastic agents on the healing of small intestinal anastomoses in the rat. **Cancer**, Houston, v.58, p.62 – 66, 1986.
- 66 ZUIDEWIJN, D. B. W. de; WOBBS, T.; HENDRICKS, T.; KLOMPMAKERS, A. A.; BOER, H. H. M. Intraperitoneal cytostatics impair healing of experimental intestinal anastomoses. **Br. J. Cancer**, London, v.63, p.937-941, 1991.

OBRAS CONSULTADAS

OBRAS CONSULTADAS

- 1 ASSOCIAÇÃO MUNDIAL DOS ANATOMISTAS VETERINÁRIOS. **Nomina Anatômica Veterinária**. Barcelona: Aedos, 1975.
- 2 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos: gráficos**, 10. Curitiba, 2000.
- 3 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos: tabelas**, 9. Curitiba, 2000.
- 4 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos: teses, dissertações, monografias e trabalhos acadêmicos**; 2. Curitiba, 2000.
- 5 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos: redação e editoração**; 8. Curitiba, 2000.
- 6 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, SISTEMA DE BIBLIOTECAS. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos: referências**; 6. Curitiba, 2001.

ANEXOS

ANEXOS

TABELA ANEXO 1: MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (A), DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (D) E DO GRUPO CONTROLE (C).

GRUPOS	C			A			D		
PESO	P INI	P CIR	P MO	P INI	P CIR	P MO	P INI	P CIR	P MO
	250	327	300	237	228	238	245	258	256
	270	274	273	228	224	231	220	226	225
	250	265	250	244	253	223	225	233	231
	270	295	276	240	243	233	235	238	222
	265	278	250	220	221	213	232	254	233
	240	252	241	195	198	220	235	242	218
	230	222	217	220	250	244	265	273	252
	240	254	248	238	242	220	235	245	232
	213	213	189	255	254	227	245	255	237
	205	205	210	211	230	226	250	252	249
	243	243	228	230	242	228	269	279	275
	280	294	272	255	264	260	250	260	245
	250	262	245	225	233	235	255	266	232
	270	283	266	220	227	230	280	291	267
	280	294	271	240	248	258	213	221	220
	230	231	239	230	238	235	230	239	195
	194	203	210	230	240	245	220	229	236
	254	267	260	230	235	242	220	227	221
	220	231	219	235	233	244	200	208	202
	240	252	252	220	227	225	278	278	250
	263	263	256	220	235	235			
				215	220	217			
MÉDIA	245,57	257,72	246,28	229	235,38	233,13	240,1	248,7	234,9
DP	24,05	32,47	26,85	13,97	14,46	12,22	21,73	21,83	19,98

P INI – peso inicial P CIR – peso no dia da cirurgia P MO – peso no dia da morte. DP – desvio padrão.

TABELA ANEXO 2: FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) NOS GRUPOS CONTROLES MORTOS NO QUINTO (C5) E NO OITAVO (C8) DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO, NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E FORAM MORTOS NO QUINTO (A5) e OITAVO (A8) DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E FORAM MORTOS NO QUINTO (D5) E OITAVO (D8) DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO.

FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO						
GRUPOS	C5	C8	A5	A8	D5	D8
	0,278	0,307	0,070	0,251	0,180	0,192
	0,258	0,298	0,046	0,188	0,204	0,243
	0,159	0,194	0,172	0,246	0,111	0,201
	0,262	0,206	0,035	0,246	0,188	0,240
	0,172	0,125	0,097	0,197	0,156	0,108
	0,161	0,218	0,081	0,203	0,023	0,160
	0,183	0,248	0,067	0,262	0,133	0,210
	0,192	0,173	0,200	0,215	0,171	0,190
	0,138	0,189	0,165	0,176	0,149	0,147
	0,205	0,169	0,139	0,166	0,153	0,202
	0,171		0,184	0,162		
MÉDIA	0,1980	0,2127	0,1141	0,2101	0,1468	0,1893
DP	0,0472	0,0573	0,0593	0,0361	0,0511	0,0414

TABELA ANEXO 3: FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NOS GRUPOS CONTROLES MORTOS NO QUINTO (C5) E NO OITAVO (C8) DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO, NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E FORAM MORTOS NO QUINTO (A5) E OITAVO (A8) DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO E NOS GRUPOS QUE RECEBERAM CISPLATINA DEPOIS DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E FORAM MORTOS NO QUINTO (D5) E OITAVO (D8) DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO.

FORÇA DE RUPTURA COMPLETA						
GRUPOS	C5	C8	A5	A8	D5	D8
	0,060	0,055	0,024	0,116	0,051	0,032
	0,101	0,177	0,046	0,034	0,056	0,041
	0,049	0,101	0,067	0,148	0,066	0,056
	0,010	0,135	0,065	0,094	0,065	0,072
	0,012	0,070	0,059	0,107	0,071	0,011
	0,032	0,083	0,042	0,101	0,009	0,049
	0,027	0,026	0,022	0,114	0,043	0,038
	0,099	0,049	0,107	0,167	0,037	0,035
	0,045	0,017	0,050	0,105	0,042	0,077
	0,035	0,052	0,067	0,039	0,029	0,096
	0,031		0,103	0,083		
MÉDIA	0,0455	0,0765	0,0592	0,1007	0,0469	0,0507
DP	0,0306	0,0495	0,0274	0,0396	0,0190	0,0250

TABELA ANEXO 4: CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NO GRUPO CONTROLE MORTOS NO QUINTO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (C5).

ANIMAL	NEUTRO.	EDEMA	CONGEST.	MONO.	TEC.	GRAN.	FIBROSE	SOMA
C5	-1	0	-1	2		1	1	2
C5	-2	-1	-1	2		2	2	2
C5	-2	-1	-1	2		3	2	3
C5	-1	0	-1	2		1	3	4
C5	-1	-1	-1	2		3	3	5
C5	-1	-1	-1	2		3	2	4
C5	-1	-1	-1	2		1	1	1
C5	-1	-1	-1	2		3	3	5
C5	-2	-1	-1	2		1	1	0
C5	-1	0	-1	2		1	1	2
C5	-1	0	-1	2		1	1	2

Neutro.- infiltrado neutrofilico, Congest.- congestão, Mono.- infiltrado monomorfonuclear, Tec. gran.- tecido de granulação

TABELA ANEXO 5: CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NO GRUPO CONTROLE MORTOS NO OITAVO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (C8).

ANIMAL	NEUTRO	EDEMA	CONGEST	MONO	TEC.	GRAN	FIBROSE	SOMA
C8	-2	-1	-1	2		3	3	4
C8	-2	-1	-1	2		3	3	4
C8	-1	-1	-1	3		2	2	4
C8	-1	-1	-1	2		3	3	5
C8	-1	-1	-1	2		3	3	5
C8	-1	0	0	2		1	1	3
C8	-2	-2	-2	2		3	3	2
C8	-1	-1	-1	3		3	3	6
C8	-1	-1	-1	2		3	3	5
C8	-1	0	-1	1		1	1	1

Neutro.- infiltrado neutrofilico, Congest.- congestão, Mono.- infiltrado monomorfonuclear, Tec. gran.- tecido de granulação

TABELA ANEXO 6: CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO OPERATÓRIO E FOI MORTOS NO QUINTO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (A5)

ANIMAL	NEUTRO	EDEMA	CONGEST	MONO	TEC.	GRAN	FIBROSE	SOMA
A5	-1	-1	-1	2		3	3	5
A5	-2	-1	-1	2		1	1	0
A5	-2	-1	-1	2		2	1	1
A5	-3	-1	-1	2		2	2	1
A5	-2	-1	-1	2		2	1	1
A5	-2	-1	-1	2		2	2	2
A5	-1	-1	-1	2		2	2	3
A5	-1	-1	-1	2		2	2	3
A5	-2	-1	-1	2		2	1	1
A5	-2	-1	-1	2		2	1	1
A5	-1	-1	-1	2		1	1	1

Neutro.- infiltrado neutrofilico, Congest.- congestão, Mono.- infiltrado monomorfonuclear, Tec. gran.- tecido de granulação

TABELA ANEXO 7: CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA ANTES DO ATO OPERATÓRIO E FOI MORTO NO OITAVO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (A8)

ANIMAL	NEUTRO	EDEMA	CONGEST	MONO	TEC.	GRAN	FIBROSE	SOMA
A8	-1	-1	-1	2		3	3	5
A8	-1	-1	-1	2		3	2	4
A8	-1	-1	-1	2		3	3	5
A8	-1	-1	-1	2		3	3	5
A8	-1	-1	-1	2		3	2	4
A8	-1	-1	-1	2		3	3	5
A8	-1	-1	-1	2		3	2	4
A8	-1	-1	-1	2		3	2	4
A8	-1	-1	-1	2		3	2	4
A8	-1	-1	-1	2		2	2	3
A8	-1	-1	-1	2		3	2	4
A8	-1	-1	-1	2		3	2	4

Neutro.- infiltrado neutrofilico, Congest.- congestão, Mono.- infiltrado monomorfonuclear, Tec. gran.- tecido de granulação

TABELA ANEXO 8: CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO ATO OPERATÓRIO E FOI MORTO NO QUINTO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (D5)

ANIMAL	NEUTRO	EDEMA	CONGEST	MONO	TEC. GRAN	FIBROSE	SOMA
D5	-2	-1	-1	2	2	2	2
D5	-2	-1	-1	2	2	2	2
D5	-2	-1	-1	2	3	2	3
D5	-2	-1	-1	2	3	2	3
D5	-1	-1	-1	2	2	2	3
D5	-2	-1	-1	2	2	2	2
D5	-2	-1	-1	3	1	1	1
D5	-1	-1	-1	3	1	1	2
D5	-2	-1	-1	3	1	1	1
D5	-2	-1	-1	3	1	1	1

Neutro.- infiltrado neutrofilico, Congest.- congestão, Mono.- infiltrado monomorfonuclear, Tec. gran.- tecido de granulação

TABELA ANEXO 5: CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE) DAS ANASTOMOSES NO GRUPO QUE RECEBEU CISPLATINA DEPOIS DO ATO OPERATÓRIO E FOI MORTO NO OITAVO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (D8)

ANIMAL	NEUTRO	EDEMA	CONGEST	MONO	TEC. GRAN	FIBROSE	SOMA
D8	-1	-1	-1	2	3	3	5
D8	-2	-1	-1	2	3	2	3
D8	-1	-1	-1	2	3	3	5
D8	-2	-1	-1	2	2	2	2
D8	-1	-1	-1	2	3	3	5
D8	-2	-1	-1	2	2	2	2
D8	-2	-1	-1	2	3	3	4
D8	-2	-1	-1	2	2	2	2
D8	-2	-1	-1	2	3	3	4
D8	-2	-1	-1	2	3	2	3

Neutro.- infiltrado neutrofilico, Congest.- congestão, Mono.- infiltrado monomorfonuclear, Tec. gran.- tecido de granulação